

第 13 回 川崎医科大学 学術集会

日時：令和 4 年 7 月 30 日（土） 10:30～15:00

会場：現代医学教育博物館 3 階資料室、4 階展示室

スケジュール：

開催の挨拶 川崎医科大学 学長 福永 仁夫	10:30～
セッション 1 (3 題)	10:35～
休憩	11:20～
セッション 2 (2 題)	11:35～
昼休憩 川崎医学会総会 (12:10～)	12:05～
ポスター閲覧 (8 題)	13:05～
休憩	13:50～
セッション 3 (3 題)	14:00～
表彰	14:55～
閉会の挨拶 川崎医科大学 副学長 柏原 直樹	

第13回 川崎医科大学学術集会 プログラム

セッション 1

(3題) 座長：金藤 秀明、大友 孝信、曾根 照喜

	分野	課題番号	時間	研究課題	研究代表者
1	神経・運動器・ 生殖・循環	R03基-090	10:35～10:50	骨細胞様細胞と炎症に着目した血管石灰化の病態解析 ～石灰化退縮を目指す新規治療戦略の探索～	浅野 澄恵
2	新分子・新技術	R03基-012	10:50～11:05	ヒアルロン酸を用いた気管支喘息における新規舌下 免疫療法の研究開発	加藤 茂樹
3	消化器・代謝・ 腎	R03基-017	11:05～11:20	小胞体ストレス応答転写因子による膵β細胞の脱分 化抑制機構の解明	北風 圭介

休憩 11:20～11:35

セッション 2

(2題) 座長：毛利 聡、山内 明

	大学名	学部学科名	時間	研究課題	研究代表者
4	川崎医療福祉 大学	医療福祉マネ ジメント学部 医療情報学科	11:35～11:50	岡山県における医療及び介護情報のデータベース開 発に関する研究	本野 勝己
5	福山大学	薬学部 薬学科	11:50～12:05	第5のがん治療法～ホウ素中性子捕捉療法～	白川 真

昼休憩 12:05～13:05 川崎医学会総会 (12:10～)

ポスター閲覧 13:05～13:50

休憩 13:50～14:00

セッション 3

(3題) 座長：松田 純子、伊藤 達男、岡本 安雄

	分野	課題番号	時間	研究課題	研究代表者
6	大学院	R03大-006	14:00～14:15	マルチパラメトリックMRIを用いた膵外分泌機能不全 のリスク因子の解明	外園 英光
7	腫瘍	R03基-032	14:15～14:30	Total Cell Kill 達成に向けた新たな白血病治療法 の研究	岡本 秀一郎
8	環境と生体反応	R03基-080	14:30～14:45	覚せい剤の胃内移行の機構の解明に関する研究	吉留 敬

— 川崎医療福祉大学・岡山県立大学・福山大学 —

	大学名	学部学科名	研究課題	研究代表者	
P1	川崎医療福祉大学	医療福祉マネジメント学部 医療情報学科	岡山県における医療及び介護情報のデータベース開発に関する研究	本野 勝己	※
P2	川崎医療福祉大学	リハビリテーション学部 言語聴覚療法学科	成人大学生におけるピクトグラムの視覚的理解度について	時田 春樹	
P3	川崎医療福祉大学	保健看護学部 保健看護学科	母子への看護場面における看護学生へのシミュレーション教育プログラムの検討	原田 さゆり	
P4	岡山県立大学	保健福祉学部 看護学科	AYA世代のがん予防に対する知識や行動への影響—高校生へのピアサポート活動を通して—	川下 菜穂子	
P5	岡山県立大学	情報工学部 人間情報工学科	圧電素子の焦電効果を用いた呼吸検知とトリアージへの応用	吉田 智哉	
P6	福山大学	薬学部 薬学科	第5のがん治療法～ホウ素中性子捕捉療法～	白川 真	※
P7	福山大学	薬学部 薬学科	レモンガラス精油成分シトラールの多面的効果	大西 正俊	
P8	福山大学	薬学部 薬学科	低密度リポタンパク質付加Methotrexate内包シリカナノ粒子の合成と評価	中村 徹也	

プロジェクト研究 抄録 (※印は口頭発表)

課題番号	研究課題	研究代表者
— 神経・運動器・生殖・循環 —		
R03基-081	高次脳中枢からの多重支配による嗅覚神経回路の調節機構	樋田 一徳
R03基-036	女兒てんかん原因遺伝子PCDH19の脳発生における役割の解明	林 周一
R03基-009	薬剤による膀胱上皮細胞の剥離と臨床的応用	横西 哲広
R03基-061	嗅球に投射する前脳基底部GABAニューロンの形態的解析	佐藤 慧太
R03基-047	核内受容体NR5A1による性行動制御機構の解明	嶋 雄一
R03基-073	生後脾臓組織の形成過程におけるAd4BPの発現とその機能	小野 公嗣
R03基-068	X線位相差CTによる非固定心室標本の微細構造可視化とマルチスケール拡張機能評価法の確立	毛利 聡
R03基-042	心傷害に対するFam64aの一過性導入による心筋再生戦略の構築	橋本 謙
R03基-050	バネ分子コネクチンを介した圧力過負荷による心不全発症の分子機構解明	花島 章
R03ス-005	水産脊椎動物の心室圧・容積関係に関する研究	臼居 優
R03基-057	脳浮腫による脳組織における遺伝子損傷の解析	中村 丈洋
R03基-038	脳虚血後の各種運動療法によるマイオカイン群の動態および効果の解析	氷見 直之
R03基-067	壁在血栓を有するいわゆる shaggy aorta 症例における寒栓合併症のリスクファクターの検討	金岡 祐司
R03基-029	下肢静脈瘤血管内レーザー治療のレーザー波長の違いによる治療効果の検討	田淵 篤
R03基-092	血管内視鏡を用いた下肢閉塞性動脈疾患に対する血管外科治療における「健常」部位と治療対象部位の血管性状解析	赤木 大輔
R03基-085	加齢性膀胱機能障害の病態解明と新規予防策の探求	大平 伸
R03基-059	カベオリン-3/nNOSを起点とする筋ジストロフィーの病態治療研究	大久保 浩平
R03基-008	JAK2遺伝子変異による脳梗塞の発症機序解明に関する研究	大山 直紀
R03基-072	生殖領域におけるサイトカインの機能解析についての検討	下屋 浩一郎
R03基-083	ストレスホルモンを併用した胎児心拍数陣痛図の解釈と分娩時介入のタイミングならびに新生児予後についての検討	杉原 弥香
R03基-087	炎症性骨破壊におけるアンジオテンシンIIおよび骨細胞の役割の解明	守田 吉孝

課題番号	研究課題	研究代表者	
R03基-089	治療抵抗性関節リウマチに対するDNA脱メチル化酵素を標的とするエピゲノム創薬	中野 和久	
R03基-090	骨細胞様細胞と炎症に着目した血管石灰化の病態解析～石灰化退縮を目指す新規治療戦略の探索～	浅野 澄恵	※
R03基-100	低線量かつ自由度の高い3次元的嚥下機能評価法の確立	新井 伸征	
R03基-003	網膜色素上皮細胞の光酸化によるメラニン生成作用の解明	鎌尾 浩行	
R03基-033	単色X線を用いた生体内におけるイミペネム・シラスタチンの一次寒栓物質としての血管内動態の観察	林田 稔	
R03基-086	筋生検のホルマリン固定パラフィン包埋検体における免疫組織化学的検討	西村 広健	
— 消化器・代謝・腎 —			
R03基-015	肺線維化における生理活性リゾリン脂質分解酵素の役割	岡本 安雄	
R03基-021	機能性脂質の分解酵素に着目した肥満のメカニズム解明	坪井 一人	
R03基-016	肺構成細胞特異的p16ノックアウトマウスを用いた肺線維化における老化細胞の役割の解明	竹之内 康広	
R03基-017	小胞体ストレス応答転写因子による膵β細胞の脱分化抑制機構の解明	北風 圭介	※
R03基-045	クラッペ病の新たな病態メカニズム「悪玉マクロファージ仮説」の提唱	松田 純子	
R03ス-004	フィトセラミド構造が維持する膀胱の機能と形態の解析	渡邊 昂	
R03ス-003	ライソゾーム酵素の新規輸送経路の探索	森脇 隆仁	
R03基-095	糸球体内皮-上皮細胞連関におけるsGC活性化の意義の検討	長洲 一	
R03基-091	腎不全モデルマウスにおける腸管粘膜微小血流変化の解析とプロスタサイクリンの腸管血流改善効果を介した尿毒症症状改善作用の検討	角谷 裕之	
R03基-097	糖尿病性腎臓病進展における糸球体内皮Glycocalyx (Hyaluronan) 及びCD44陽性Leukocyteの役割解明	板野 精之	
R03基-094	糸球体濾過率 (GFR) 制御機構におけるKeap1-Nrf2活性の役割の解明	城所 研吾	
R03基-096	eNOS-NO-sGC活性化によるwnt-catenin経路制御に着目した尿細管保護効果の検討	山内 佑	
R03基-025	ミトコンドリア作動薬イメグリミンの膵β細胞・動脈硬化に及ぼす影響の検討	金藤 秀明	
R03基-014	2型糖尿病治療における効果的な運動指導を探索するための多面的検討	中西 修平	
R03基-019	動脈硬化惹起性リポ蛋白代謝異常および肝障害に対する選択的PPARαモジュレーター ペマフィブラートの有用性の検討	下田 将司	

課題番号	研究課題	研究代表者
R03基-027	ブドウ糖毒性が膵ラ氏島の m6A RNAメチレ化不全に与える影響	木村 友彦
R03基-058	Weekly GLP-1受容体作動薬デュラグルチドとセマグルチドの実臨床における有効性と安全性の比較 Comparison of clinical efficacy and safety of weekly GLP-1 receptor agonists duraglutide and semaglutide	片倉 幸乃
R03基-006	過敏性腸症候群の病態と腸内微生物との関連に関する検討	塩谷 昭子
R03基-056	画像強調処理LCI(Linked Color Imaging)を用いた腸上皮化生粘膜に対する組織学的鑑別に関する研究：胃癌発生高リスクの診断を目指して	梅垣 英次
R03基-026	筋肉-腸-腸内細菌叢相関を用いた大腸腫瘍発生予防法の開発	松本 啓志
R03基-052	日本人Crohn病患者における抗TNF α 抗体製剤のTherapeutic Drug Monitoringの有用性検討	半田 修
R03基-076	好酸球性食道炎・胃腸炎の病態に関連する消化管細菌叢の検討	大澤 元保
R03基-066	機能的MR imagingによる早期糖尿病性腎症の画像的評価	山本 亮
— 腫瘍 —		
R03基-032	Total Cell Kill 達成に向けた新たな白血病治療法の研究	岡本 秀一郎
R03基-028	プロテオーム解析により見出したALK阻害薬耐性肺癌の新規分子標的	瀧川 奈義夫
R03基-037	進行期軟部肉腫に対する適切な化学療法のシーケンスを確立するための基礎的研究	山根 弘路
R03基-040	殺細胞性抗がん薬による第3世代EGFR-TKI耐性誘導と克服に関する基礎的検討	越智 宣昭
R03基-078	RNA sequence を用いた肺癌オルガノイドにおける融合遺伝子の同定とactionable変異に対する抗腫瘍効果の誘導	山辻 知樹
R03基-077	疾患モデルとしての肺癌オルガノイドにおける癌不均一性の解析	深澤 拓也
R03基-011	GI-PETを用いた早期肺癌の悪性度評価と縮小手術への応用	清水 克彦
R03基-043	キメラ抗原受容体chimeric antigen receptor (CAR) 遺伝子改変T細胞療法後の患者におけるCAR-T細胞体内動態の解析	近藤 英生
R03基-074	がん関連線維芽細胞の悪性型サブセット同定に関する基礎的研究	村田 卓也
R03基-055	癌性腹膜炎に対する新規治療法の開発	永坂 岳司
R03基-064	「せん妄発症高リスク患者予測モデル」の構築	岡脇 誠
R03基-054	免疫チェックポイント阻害剤による胃癌薬物療法に対する新規バイオマーカーの開発	谷岡 洋亮
R03基-020	MRI-経直腸超音波融合画像ガイド下前立腺標的的生検を用いた前立腺癌の診断法の最適化：超高b値拡散強調像の有用性	玉田 勉

※

課題番号	研究課題	研究代表者
R03基-099	前立腺MRIにおける3つの異なる撮像法を用いた拡散強調像 (ssh-EPI DWI、ssh-EPI DWI using C-SENSE、IRIS) の臨床的実現可能性にむけての比較検討	木戸 歩
R03基-065	胃 MALT リンパ腫における放射線治療後の有害事象の検討とリアルタイムイメージングの開発	釋舎 竜司
R03基-053	骨髄増殖性腫瘍および骨髄異形成症候群の遺伝子解析と新規分子標的治療の開発	北中 明
R03基-030	骨髄異形成症候群細胞株を用いた造血幹細胞モデルの確立	辻岡 貴之
R03基-010	トリプルネガティブ乳がんの腫瘍免疫に関する臨床病理学的検討	森谷 卓也
R03基-035	RNA編集を起点とした食道がん特異的遺伝子発現ネットワーク異常の解明	増田 清士
R03基-079	肺腺癌におけるROS1融合遺伝子に対する薬剤耐性機序の解明	羽井佐 実
— 環境と生体反応 —		
R03基-075	オオサンショウウオのゲノム解析	西松 伸一郎
R03基-062	慢性肉芽症遺伝子gp91 ^{phox} のタンパク質構造解析	栗林 太
R03基-031	慢性肉芽腫症の新規治療戦略シーズ創生	宮野 佳
R03基-044	HTLV-1感染による免疫細胞老化と慢性炎症・発がんに関する包括的研究	齊藤 峰輝
R03基-023	ウイルス行動解析によるトリインフルエンザウイルスのヒトへの感染性の評価	堺 立也
R03ス-002	HTLV-1関連脊髄症モデルマウスを活用し、IL-17及びIL-17受容体の発現と病態形成機序の関連性を探索する	和田 雄治
R03ス-001	インフルエンザウイルスの転写の場と核外輸送のキネティクス	三浦 未知
R03基-024	インフルエンザワクチンの効果改善に向けた取り組み—multi-HAスプリットワクチンの有効性の検証—	後川 潤
R03基-046	肥満およびメカニカルストレス関連炎症惹起因子に着目した乾癬の病態解析および新規治療戦略の探索	向井 知之
R03基-051	BST-1/CD157による小腸パイエル板胚中心B細胞の機能制御	井関 將典
R03基-093	腸管・神経・免疫連関制御分子BST-1/CD157のパーキンソン病の発症と病態における役割	石原 克彦
R03基-071	腸管炎症におけるBST-1の機能検討	矢作 綾野
R03基-070	悪性中皮腫患者におけるICI治療効果を予見する免疫学的特徴の探索	西村 泰光
R03基-034	自己免疫疾患の発症に関わる血中因子の検討 —自己免疫疾患早期発見ツール開発をめざして	李 順姫

課題番号	研究課題	研究代表者	
R03基-080	覚せい剤の胃内移行の機構の解明に関する研究	吉留 敬	※
R03基-088	全身性強皮症におけるエピゲノムバイオマーカーの探索	藤田 俊一	
R03基-041	免疫再構築症候群（IRIS）として発症する帯状疱疹の免疫状態の評価と合併症・予後予測因子の確立	山本 剛伸	
R03基-002	アデノウイルス陰性結膜炎の実態解明	藤本 久貴	
R03基-098	小動物SPECT/CTを用いたマウス肝線維症モデルの非侵襲的肝機能評価法の確立	犬伏 正幸	
— 新分子・新技術 —			
R03基-069	核膜タンパク質は細胞遊走の制御を通して癌転移に関わっているのか？	山内 明	
R03基-013	安全性の高い弱毒生インフルエンザワクチンの開発に資する基盤研究	内藤 忠相	
R03基-007	我々が同定した新規遺伝性疾患MSPSPSに対する治療薬探索の試み	大友 孝信	
R03基-022	体幹筋細胞老化に関わる、lncRNA機能調節マッピングのためのCRISPR/dCas13プラットフォーム解析研究	伊藤 達男	
R03基-012	ヒアルロン酸を用いた気管支喘息における新規舌下免疫療法の研究開発	加藤 茂樹	※
R03基-060	サルコペニアに対する革新的ペプチド医薬の開発	砂田 芳秀	
R03基-048	革新的バイオマーカーによる心疾患・筋疾患の簡易迅速診断	大澤 裕	
R03基-063	サルコペニアの新しいバイオマーカー開発	宗兼 麻美	
R03基-005	脳主幹動脈閉塞による脳梗塞急性期におけるNeurovascular unit 障害と関連するバイオマーカーの探索	八木田 佳樹	
R03基-004	術前薬物療法前後の乳癌組織の生物学的変化を用いた予後予測ツールの開発	紅林 淳一	
R03基-001	糖代謝阻害剤2-Deoxy-D-Glucose 封入PLGAナノ粒子による肝細胞癌治療開発	仁科 惣治	
R03基-018	人工知能を用いた慢性腎臓病患者の予後予測システムの開発	神田 英一郎	
— 大学院研究 —			
R03大-001	Vessel wall imaging を用いた症候性頭蓋内動脈狭窄病変の不安定性評価と不安定プラークに関連する因子の検索	岩本 高典	
R03大-002	トリプルネガティブ乳がんの特徴に関する病理学的検討	三上 友香	
R03大-003	末梢動脈疾患におけるVasohibinの発現に関する臨床病理学的検討	磯田 竜太郎	

課題番号	研究課題	研究代表者
R03大-004	TNF受容体関連周期性症候群（TRAPS）モデルマウスを用いた病態解明	赤木 貴彦
R03大-005	身体的活動量・体脂肪率・筋肉量が消化器症状におけるQOLに及ぼす影響	角 直樹
R03大-006	マルチパラメトリックMRIを用いた膵外分泌機能不全のリスク因子の解明	外園 英光
R03大-007	HSV-1感染発汗低下マウスにおける発汗障害のメカニズムの解析	浅沼 由美子

※

医学研究への扉 優秀賞 抄録

	演題名	学生氏名
— 令和3年度 医学研究への扉 —		
優秀賞	急性薬物中毒患者に対する胃洗浄の適応判断にCTは有用か	松井 勇樹
優秀賞	医学生が研修を希望する大学病院の特徴	福井 千遥
優秀賞	EGFR遺伝子変異陽性肺がん細胞株におけるPD-1/PD-L1発現と免疫チェックポイント阻害薬の有効性に関する基礎的検討	吉田 茉由
優秀賞	レチノイン酸は、内皮細胞のH ₂ O ₂ 生成量の調節を介してレドックス反応を制御する	上村 淳修
優秀賞	SSI (surgical site infection) 制御のための手術環境清浄化に関する検討	福田 なぎ沙
優秀賞	アスパラギン結合型糖鎖に着目した抗原変異対応型カクテルワクチンの開発	安田 浩暁
優秀賞	ロブスター心臓の構造からバネ分子コネクチンの統合的解析	伊原 魁
優秀賞	腹膜線維化モデルの作成	山田 浩平
優秀賞	糞便移植は大腸がんを抑制するか	兼城 陽菜子
優秀賞	遺伝性有口赤血球症の病因解析	伊室 天羅
優秀賞	気息性嗄声の治療のためのマウス声門閉鎖不全モデルの検討	平林 朋也
優秀賞	認知症の行動・心理症状発現に関する認知機能低下の影響～ABC認知症スケールを用いた検討～	福良 有唯
優秀賞	『うわっ…私の国の接種率低すぎ…？ 子宮頸がんワクチン接種率、驚異の1%未満！！』	川田 政康
優秀賞	擦筆（さっぴつ）の軌跡～メディカルイラストレーションによる病態理解～	小豆畑 美咲
優秀賞	頭蓋内外バイパス術技術向上のための様々な材料をもちいたトレーニング法の検討-2	高柳 史生
優秀賞	簡易電気分解装置を用いたファラデー定数の測定と最適条件の評価2	池野 元紀
優秀賞	覚せい剤の胃内分泌に対する制酸薬の影響	細川 隆利
優秀賞	1型糖尿病患者におけるSGLT2阻害薬（イプラグリフロジン）の有効性の検討	田中 一風

【抄録集】

I. 口頭発表

— セッション1 —

1.

分野：神経・運動器・生殖・循環

課題番号：R03 基-090

研究課題：骨細胞様細胞と炎症に着目した血管石灰化の病態解析

～石灰化退縮を目指す新規治療戦略の探索～

研究代表者名（所属）：浅野 澄恵（リウマチ膠原病学）

共同研究者名：守田 吉孝、向井 知之、中野 和久

【目的】血管石灰化形成・進展における骨細胞様細胞および炎症性サイトカインの役割の解明を行い、骨細胞様細胞の機能調節による血管石灰化の進展抑制、更には石灰化の退縮を目指す治療法の探索を行なう。【方法】マウス血管石灰化モデルとして、摘出大動脈組織を高濃度リン存在下で培養し血管石灰化を誘導、マイクロCT、von Kossa 染色、Alizarin red 染色にて石灰化を評価した。さらに、培養液にサイトカイン(TNF、IL1 β 、IL-6+sIL6R、IL17a)、RANKL を添加し、石灰化進展の差異を検討した。また、血管石灰化部位に存在する骨細胞様細胞の表面マーカーを確認するため、DMP1、MEPE、Sclerostin、Osteocalcin、Phalloidin で組織染色を行った。【結果】高濃度リン(2.6mM Na₂HPO₄/NaH₂P₄O₇)存在下で10日間培養したところ、摘出大動脈組織の中膜を中心に、マイクロCT、von Kossa 染色、Alizarin red 染色のいずれでも血管石灰化を確認できた。培養液にIL17aを添加した群で有意に石灰化が進展した。血管石灰化組織内において骨細胞マーカーで染色される細胞は認められなかった。【結論】血管石灰化はIL-17a投与で有意に進展したが、血管石灰化組織の骨細胞様細胞の同定には至らなかった。

2.

分野：新分子・新技術

課題番号：R03 基-012

研究課題：ヒアルロン酸を用いた気管支喘息における新規舌下免疫療法の研究開発

研究代表者名（所属）：加藤 茂樹（総合臨床医学）

共同研究者名：田中 仁美

（目的）これまでダニ誘発マウス慢性喘息モデルのアレルゲン特異的舌下免疫療法（SLIT）におけるヒアルロン酸（HA）の作用増強剤としての有効性を証明し、国際特許を出願した。今回は、臨床治験を念頭に置き、実際にヒトへ薬剤として投与を予定しているHAとダニ溶液を用いて、ダニ誘発マウス慢性喘息モデルにおける新規SLITの治療効果の最終確認を行う。

（方法）既報のBALB/cマウスを用いたダニ誘発慢性喘息モデルに対してダニ溶液にHAを加えたSLITを行う。SLITは、1日1回週5日2週施行する。その後、ダニ溶液を再投与し喘息反応を誘発する。治療効果の判定は、1:即時型喘息反応、2:気道過敏性、3:好酸球性気道炎症、及び4:血中ダニ特異的抗体価で評価する。今回の研究では、臨床治験に用いる予定であるダニ（治療用ダニアレルゲンエキス皮下注『トリイ』100,000JAU/mL）及びHA（ヒアルロンサンHA-LF5-A:食品添加物：キューピー）を使用する。

（結果）ダニ溶液だけでは有意な改善を認めなかったが、HAを舌下免疫療法に加えることにより、1～4の有意な改善を認めた。特に1,2の生理学的検査に関しては正常化した。

（考察）今回の新規SLITは、治療後にアレルゲンの再チャレンジを行っても気道抵抗の上昇を認めなかったことから寛解したものと考えられた。今後は、この寛解効果がどのくらい維持できるかを検討する。

3.

分野：消化器・代謝・腎

課題番号：R03 基-017

研究課題：小胞体ストレス応答転写因子による膵β細胞の脱分化抑制機構の解明

研究代表者名（所属）：北風 圭介（薬理学）

共同研究者名：岡本 安雄

糖尿病状態では、高血糖や体内の炎症等により膵β細胞に様々なストレスがかかり、病態のさらなる悪化が引き起こされる。そのため、膵β細胞をストレスから保護する糖尿病治療法開発が求められている。ATF4は細胞の恒常性維持機構である小胞体ストレス応答（UPR）を制御する転写因子であるが、膵β細胞における役割には不明な点が多く残っている。そこで本研究では、糖尿病発症における膵β細胞とATF4機能との関連を解析した。まず、UPRを調節する化合物Sephin1を小胞体ストレス依存性の糖尿病モデルであるAkitaマウスに3週間経口投与すると、膵島のATF4発現が増加し、糖代謝が改善した。次に膵β細胞特異的*Atf4*-KOマウスとAkitaマウスを交配した（Akita/βKO）。Akita/βKOはより早期から血糖コントロールが悪化し、寿命が顕著に短かった。また、Akita/βKOの膵β細胞はALDH1A3陽性の未成熟な状態に脱分化し、膵β細胞以外の内分泌細胞（α、δあるいはPpy細胞）に再分化することが示唆された。さらに、ATF4下流因子として転写因子ATO8を見出し、ATO8がこの再分化を抑制することが示唆された。以上の結果から、ATF4による転写制御は膵β細胞の正常な機能を維持し糖尿病の発症を抑えるために必須であり、UPRの調節が糖尿病治療の標的として有望であることが明らかとなった。

— セッション2 —

4.

演題名：岡山県における医療及び介護情報のデータベース開発に関する研究

研究代表者名：本野 勝己

所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療福祉マネジメント学部・医療情報学科

【目的】本研究の目的は、岡山県内の医療及び介護施設から診療及び介護データを収集し、地域医療の実態分析に必要なデータベースを構築することである。

【方法】対象は岡山県内の医療及び介護施設において2020年度に発生したDPCデータ・医科レセプト及び介護レセプトデータ。収集方法は岡山県病院協会の協賛を得て、本研究の主旨説明書及び参加依頼書を会員病院へ郵送し、参加承諾を得た施設から提供される各データ。参加協力施設とは「データ受領及びデータ取扱の覚書」にて個別契約を行う。

【結果】岡山県病院協会会員160施設に案内送付を行い、データ受領の個別契約を行ったのは13施設であった。このうちDPCデータは10施設から提供され、DPC総レコード数は72,541,479であった。これらは本研究で用意したSQL Serverに格納した。現時点でこれらのデータを使用した論文を3本、学会発表を4本予定している。また、協力施設については、提供データによる分析報告書を作成し送付した。

【考察】分析対象症例数としては様式1ベースで約60,000件であることから、研究資料としては問題ないとする。一方でDPCデータを作成していない施設では医科レセプトデータしか使用できず、現在匿名加工情報化アプリケーション（ハッシュ関数発生装置）を開発中であり、post-acute患者の医療及び介護状況の分析手法についても検討を行う予定である。

【結語】本研究を通して岡山県の地域医療構想への助言や人材育成にも繋げたいと考えている。

5.

演題名：第5のがん治療法～ホウ素中性子捕捉療法～

研究代表者名：白川 真

所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

がん治療法は外科的治療、化学療法、放射線治療の3つに大別され、近年では第4の治療法として免疫療法が認知されている。これらに加えて、2020年に第5の治療法としてホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の保険適応が開始された。

BNCTとは中性子とホウ素の非放射性同位体(10B)の反応を利用した腫瘍細胞選択的治療法である。そのメカニズムは10Bに中性子線を照射すると、 α 壊変により産生される α 線と ${}^7\text{Li}$ 粒子がDNA2本鎖を切断することでアポトーシスを引き起こし、腫瘍を縮退させる。加えて、中性子線および10B単体では人体への影響が極めて低いことから副作用の極めて少ない治療法である。

現在、製造販売承認を受けているホウ素薬剤はBoronophenylalanine (BPA)を有効成分とするステボロン[®]の一剤だけである。しかしながら、BPAは腫瘍貯留性が低く、溶解度も極めて低い。また、腫瘍血液比や正常組織での低分布等の条件を鑑みると、BNCTにとって真に理想的な薬剤とはいえない。我々はBNCTをより効果的な治療とするために、ドラッグデリバリーシステムを主として、様々な薬剤開発を行っている。本発表ではこれまでに我々の開発した新規ホウ素薬剤について報告する。

— セッション3 —

6.

分野：大学院

課題番号：R03大-006

研究課題：マルチパラメトリックMRIを用いた膵外分泌機能不全のリスク因子の解明

研究代表者名(所属)：外園 英光(形態系分野 放射線診断学)

指導教授名：玉田 勉

共同研究者名：神吉 昭彦、八十川 和哉、檜垣 篤、木戸 歩、林田 稔、山本 亮

【目的】膵外分泌機能不全のリスク因子の解明におけるマルチパラメトリックMRIの有用性について検討した。

【対象と方法】本後方視的研究は2016年11月から2018年1月の間にマルチパラメトリックMRIを撮像され、膵疾患を有する症例を除外した46症例を対象とした。膵外分泌機能として、空間選択的IRパルス併用 cine-dynamic MRCPを用いた膵液の移動距離(secretion grade: SG)を評価した。膵実質の測定では、脊柱起立筋との信号強度比(signal intensity ratio: SIR)をin phase(SIR-I)、opposed phase(SIR-O)、T2WI(SIR-T2)で計測し、apparent diffusion coefficient(ADC)値、proton density fat fraction(PDFF)も計測した。

【結果】SG、SIR-I、SIR-O、SIR-T2、ADC、PDFFはそれぞれ 1.2 ± 0.88 、 1.6 ± 0.31 、 1.5 ± 0.44 、 1.9 ± 0.42 、 1.5 ± 0.28 、 8.2 ± 6.69 であった(平均 \pm SD)。PDFFはSGと有意な負の相関を示した($\rho = -0.317$ 、 $P = 0.032$)。SGとSIR-I、SIR-O、SIR-T2、ADCに有意な相関関係は認められなかった。

【結論】Fat fractionによって定量された膵臓における脂肪の増加は膵外分泌機能不全のリスク因子である可能性がある。膵臓におけるfat fractionは膵外分泌機能不全の早期発見の指標となる可能性がある。

7.

分野：腫瘍

課題番号：R03基-032

研究課題：Total Cell Kill 達成に向けた新たな白血病治療法の研究

研究代表者名(所属)：岡本 秀一郎(生化学)

【背景】

急性骨髄性白血病(AML)は、化学療法抵抗性による高い再発率が問題となっている。AML細胞は、骨髄微小環境の血管内皮細胞からの分泌因子により抗がん剤耐性を獲得すると報告がある。近年、耐性化に血管内皮増殖因子(VEGF)/VEGF受容体2(VEGFR-2)シグナルの関与が指摘されているが、その実態は不明な点が多い。

【方法】

AML細胞株と血管内皮細胞株を共培養し、抗がん剤耐性が誘導される骨髄内環境を*in vitro*で再現した。この共培養システムでVEGFR-2阻害剤処理、またはVEGFR-2ノックアウト血管内皮細胞株を用いて、抗がん剤耐性化とVEGF/VEGFR-2シグナルの関連を解析した。

【結果】

単独培養に比べて共培養した AML 細胞株は、抗がん剤によるアポトーシスが抑制された。興味深いことに、この効果は、VEGFR-2 阻害剤または VEGFR-2 ノックアウトによる VEGF/VEGFR-2 シグナルの遮断の影響を受けなかった。一方で、トランスウェルを用いて、AML 細胞株と血管内皮細胞の接着を阻害すると、抗がん剤に対する抵抗性は失われた。

【考察】

共培養システムで誘導される抗がん剤耐性には、VEGF/VEGFR-2 シグナルが直接的に関与していないようである。一方、耐性化がトランスウェルにより抑制されることから、血管内皮細胞と白血病細胞の細胞間接着が重要であることを示唆する。従って、VEGF/VEGFR-2 シグナルは、微小環境形成に必要な血管内皮細胞の遊走を介して、細胞間接着を促進して、間接的に耐性化誘導に関与していると考えられる。

8.

分野：環境と生体反応

課題番号：R03 基-080

研究課題：覚せい剤の胃内移行の機構の解明に関する研究

研究代表者名（所属）：吉留 敬（法医学）

【目的】我々は、ラットにメタンフェタミン(MAMP)を皮下投与したとき、その胃内容濃度が血中濃度の数十倍もの高値に達することを明らかにした。本研究では、皮下投与した MAMP の胃内移行動態に及ぼす胃酸分泌抑制薬(GSI)の影響を調べた。

【方法】24 時間絶食させたラットを使用した。GSI 投与群には、Omeprazole 及びFamotidine を各 1mg/kg 皮下投与した。GSI 投与の 30 分後に、セボフルラン麻酔下で、塩酸 MAMP を 1mL/kg となるよう皮下投与した。その後開腹し、噴門の上部及び幽門の下部を鉗子で把持した。胃内に 0.1M リン酸ナトリウム緩衝生理食塩水(pH9.4)を 1mL/分の速度で 2 分間注入後、全て抜き去った。この洗浄操作を 3 回行った後に、当該液を同速度で 2 分間胃内に注入し、30 分間保持させた。注入液を回収後、速やかに右心から血液を採取した。本動物実験は、川崎医科大学動物実験委員会の承認を得た(承認番号：19-082)。

【結果及び考察】血中 MAMP 濃度に対する胃内注入液中の MAMP 濃度の比は、対照群(n=6)では 9.75 ± 5.85 であったのに対し、GSI 投与群(n=6)では 0.26 ± 0.20 であった。GSI の投与によって、皮下投与した MAMP の胃内への移行が明瞭に阻害されたことから、血液中の MAMP が胃内へと移行する際に、胃酸分泌機構が関与していることが明らかとなった。

II. ポスター

P 1.

演題名：岡山県における医療及び介護情報のデータベース開発に関する研究

研究代表者名：本野 勝己

所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・医療福祉マネジメント学部・医療情報学科

【目的】本研究の目的は、岡山県内の医療及び介護施設から診療及び介護データを収集し、地域医療の実態分析に必要なデータベースを構築することである。

【方法】対象は岡山県内の医療及び介護施設において 2020 年度に発生した DPC データ・医科レセプト及び介護レセプトデータ。収集方法は岡山県病院協会の協賛を得て、本研究の主旨説明書及び参加依頼書を会員病院へ郵送し、参加承諾を得た施設から提供される各データ。参加協力施設とは「データ受領及びデータ取扱の覚書」にて個別契約を行う。

【結果】岡山県病院協会会員 160 施設に案内送付を行い、データ受領の個別契約を行ったのは 13 施設であった。このうち DPC データは 10 施設から提供され、DPC 総レコード数は 72,541,479 であった。これらは本研究で用意した SQL Server に格納した。現時点でこれらのデータを使用した論文を 3 本、学会発表を 4 本予定している。また、協力施設については、提供データによる分析報告書を作成し送付した。

【考察】分析対象症例数としては様式 1 ベースで約 60,000 件であることから、研究資料としては問題ないとする。一方で DPC データを作成していない施設では医科レセプトデータしか使用できず、現在匿名加工情報化アプリケーション（ハッシュ関数発生装置）を開発中であり、post-acute 患者の医療及び介護状況の分析手法についても検討を行う予定である。

【結語】本研究を通して岡山県の地域医療構想への助言や人材育成にも繋がりたいと考えている。

P 2.

演題名：成人大学生におけるピクトグラムの視覚的理解度について

研究代表者名：時田 春樹

所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・リハビリテーション学部・言語聴覚療法学科

【はじめに】ピクトグラムとは、一般に「絵文字」「絵単語」などと呼ばれ、何らかの情報や注意を示すために表示される視覚記号の一つである。現在、さまざまな場所で設置されているが、視覚的理解度について報告は少ない。

【方法】対象は脳損傷の既往がない成人大学生 24 名（平均年齢 21.8±0.6 歳）である。ディスプレイ上にランダムに表示されるピクトグラムを見て、どのような意味であるかを口頭にて回答させた。なお、今回の研究では、すべて事前にモノクロ処理を行った 151 個で実施した。

【結果】正答率の全体平均は約 66.1%であった。同じ領域で視覚的な形が似ているものと間違う誤りの全体平均は 8.7%と最も多く、一方で、同じ領域で視覚的な形と異なるものと間違う誤りや、反対の意味の間違いの誤り、見落としによる間違いの誤りは全体平均 0%であった。ピクトグラムには A、B、C、その他の計 4 段階で推奨度が設定されている。推奨度 A や B は、特に多数のユーザーにとって必要なものであると定義されているものであるが、正答率が 60%を下回るものがそれぞれ 20%程度含まれていた。また、正答率と推奨度については、関連がみられなかった。

【考察】視覚情報の単純化と考えられる誤りが多く、視覚的理解度はさまざまであった。生活様式の違いや、ピクトグラムへの関心度なども影響していると思われる。

P 3.

演題名：母子への看護場面における看護学生へのシミュレーション教育プログラムの検討

研究代表者名：原田 さゆり

所属（大学・学部・学科）：川崎医療福祉大学・保健看護学部・保健看護学科

目的：学生が主体的に看護実践能力を獲得していく力の育成を目指し、母子への看護場面におけるビデオフィードバックを用いたシミュレーション（以下 Sim）教育プログラムの評価、検討を行うことであ

る。

方法：研究対象者は、3年次生 139 名、調査項目は、Sim1、2 回目に自己評価表に学生が記入したデータで、退行性変化の観察問診・アセスメント・ケア、心理状態の観察と援助、倫理的配慮、自信（アセスメント、ケア）、また学生の感想（質的データ）であった。

分析方法：Sim1 回目と Sim2 回目の各変数の変化、比較を量的に分析した。教育プログラムの感想である自由記載については、内容分析の手法を用いた。

結果：Sim1 回目、Sim2 回目と回を重ねるごとにすべての項目で有意に得点が上昇した。気づきに有効であったものは、デブリーフィング（83.2%）、ビデオフィードバック（78.2%）、事前練習；ブリーフィング（73.1%）であった。母子の Sim 教育プログラムの感想は、182 のコード、13 のカテゴリーに分類された。

考察・まとめ：学生は、ビデオフィードバックにより自分の看護を客観的に見て改善点に気づき、デブリーフィングを通してメンバーや教員の承認を通して自信につながっていた。Sim を繰り返して知識と技術を統合させ、母親の気持ちに寄り添う看護ケアを考えられるレベルに到達していた。

P 4.

演題名：AYA 世代のがん予防に対する知識や行動への影響

—高校生へのピアサポート活動を通して—

研究代表者名：川下 菜穂子

所属（大学・学部・学科）：岡山県立大学・保健福祉学部・看護学科

【目的】ピアサポート活動の中で高校生へ「AYA 世代のがん」を伝えることで、AYA 世代当事者でもある学生自身のがん予防に対する知識や行動にどのような影響があったのかを明らかにすることを目的とした。

【研究方法】グループ・フォーカス・インタビュー。調査期間は 2021 年 5 月～2022 年 3 月。研究対象は、研究協力の同意が得られたピアサポート活動に参加した大学生・大学院生 11 名。ピアサポート活動参加後の学生が、がん予防のために実施したセルフケアを、オレムのセルフケア不足看護理論¹に示されている 10 の力（パワー）構成要素を用いて、分析した逐語録よりコードを抽出し、コードを比較しながら語られた意味に配慮して共通するコードをまとめカテゴリー化し分析した。なお岡山県立大学倫理委員会（受付番号 19-86）の承認を得て実施した。

【結果】本研究では 10 の力（パワー）構成要素のうち、《構成要素 1， 4， 5， 6， 7， 9》を確認することができた。

【考察】ピアサポート活動に参加した学生は、限られた 10 の力（パワー）構成要素を用いて学生自身のがん予防に必要な知識を得て、動機づけや意欲、検査や受診等のセルフケア行動につながったことが明らかとなった。

1. Orem D. E.: Nursing, concepts of practice, Fifth edition, Mosby-Year Book, 106, 1985.

P 5.

演題名：圧電素子の焦電効果を用いた呼吸検知とトリアージへの応用

研究代表者名：吉田 智哉

所属（大学・学部・学科）：岡山県立大学・情報工学部・人間情報工学科

災害現場で限られた医療物資や医療スタッフのもとでできるだけ多くの傷病者を救護するため、効率的な救護活動の手順を示す方法がトリアージである。トリアージでは、傷病者の生理学的指標（気道・呼吸・意識・循環）をもとに傷病の重度を判定し救護の順番を決め重度を示したトリアージタグを取り付ける。呼吸数が正常（毎分 10 回以上かつ 29 回以下）の場合は、Category II（重傷）と判断されるが、トリアージによる判定後、容体が変化することもあるので傷病者の状態を常にモニタリングし、重度の悪化（Category II→Category I または、Category II→Category 0）を早期発見する必要がある。

このためには、人数分のモニタリング装置を用意する必要があるが、現実的には装置等の制約もあり難しい。そこで、Category II（重傷）と分類された傷病者を対象にした簡易モニタリングデバイスを考える。

本研究では圧電素子を用いて簡易モニタリングデバイスを開発した。圧電素子をセンシングデバイスとして用いるとマスク内の熱変化で焦電効果により出力電圧が発生するため、電池レスで呼吸を検知することができる。また、圧電素子はブザーとしても機能するためモニタリングデバイスは小型でシンプルな低消費電力の呼吸計が実現できる。マスクに装着したモニタリングデバイスは、呼吸を検出し、呼吸に同期してLEDを点滅して状態を表示する。また、呼吸があらかじめ指定された病態に陥るとアラーム音を発生させることで、周囲に知らせることができる。

P 6.

演題名：第5のがん治療法～ホウ素中性子捕捉療法～

研究代表者名：白川 真

所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

がん治療法は外科的治療、化学療法、放射線治療の3つに大別され、近年では第4の治療法として免疫療法が認知されている。これらに加えて、2020年に第5の治療法としてホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の保険適応が開始された。

BNCTとは中性子とホウ素の非放射性同位体(^{10}B)の反応を利用した腫瘍細胞選択的治療法である。そのメカニズムは ^{10}B に中性子線を照射すると、 α 壊変により産生される α 線と ^7Li 粒子がDNA2本鎖を切断することでアポトーシスを引き起こし、腫瘍を縮退させる。加えて、中性子線および ^{10}B 単体では人体への影響が極めて低いことから副作用の極めて少ない治療法である。

現在、製造販売承認を受けているホウ素薬剤はBoronophenylalanine (BPA)を有効成分とするステボロニン®の一剤だけである。しかしながら、BPAは腫瘍貯留性が低く、溶解度も極めて低い。また、腫瘍血液比や正常組織での低分布等の条件を鑑みると、BNCTにとって真に理想的な薬剤とはいえない。我々はBNCTをより効果的な治療とするために、ドラッグデリバリーシステムを主として、様々な薬剤開発を行っている。本発表ではこれまでに我々の開発した新規ホウ素薬剤について報告する。

P 7.

演題名：大西 正俊

研究代表者名：レモンガラス精油成分シトラールの多面的効果

所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

我々はこれまでに抗酸化酵素 heme oxygenase (HO)-1 の誘導に関与するタンパク質として Keap1 に着目して研究を行ってきた。その結果、 \square , \square -不飽和カルボニル構造がこのタンパク質のポケットに侵入しマイケル付加反応を起こすことによって、転写因子 Nrf2 が遊離・核内移行し、HO-1 の誘導に寄与することを明らかにした。アロマオイルとして繁用されるレモンガラスの成分シトラールもこの構造を持つ候補化合物であるが、マウスに吸入させると、脳内 HO-1 mRNA レベルが逆に低下した。この反応は、ドパミンレベルの低下に伴うものであることが分かり、特に側坐核を含む腹側線条体領域で見られたため、マウスがシトラールの香りを忌避していることが示唆された。実際、シトラールの香りを鼻でつつくスニффイング行動の低下が観察された。一方、シトラールを経口投与した場合は、脳内 HO-1 タンパク質レベルは上昇した。これらの結果から、シトラールは、嗅覚信号として脳に入った場合はドパミンレベルの低下に伴い HO-1 レベルは低下するが、直接作用すると、Keap1 との相互作用を介して HO-1 レベルが上昇することが示唆された。レモンガラスは、食用としては抗酸化効果が期待できる一方で、その香りにより、害獣除けとしても応用できる可能性がある。

P 8.

演題名：低密度リポタンパク質付加 Methotrexate 内包シリカナノ粒子の合成と評価

研究代表者名：中村 徹也

所属（大学・学部・学科）：福山大学・薬学部・薬学科

【目的】薬剤を標的細胞へ選択的に送達させることは、副作用の回避と効果的な薬物療法が期待できる。低密度リポタンパク質 (LDL) 受容体は、多くの癌細胞で高発現しており、LDL を活用した薬剤送達は有用で

あると考えられる。そこで本研究ではシリカナノ粒子に薬剤を内包し LDL との吸着付加を利用することで、LDL 受容体を標的とした能動的ターゲティング製剤の合成を行った。

【方法】逆ミセル法およびゾル-ゲル法によりシリカナノ粒子に Methotrexate (MTX) を内包、LDL を吸着付加させることで LDL/SNPs/MTX を作製した。合成品は、特性評価および HepG2 細胞を用いた in vitro 評価、担癌マウスによる in vivo 評価を行った。

【結果および考察】合成品の特性評価として粒子径は約 100nm、薬剤搭載量は MTX 量として 400 μ M であった。次に HepG2 細胞を用いた in vitro 評価ではトリパンブルー排出試験、LDH assay により細胞毒性は否定的であった。また WST-8 assay、DNA ladder assay により濃度依存的な殺細胞効果とアポトーシス誘導が認められた。さらに蛍光標識による細胞内取り込み評価では、細胞内凝集よりエンドサイトーシスによる細胞内取り込みが示唆された。in vivo 評価では担癌マウスにおいて合成品を尾静脈内投与により経時的に体重および腫瘍径の測定を行ったところ、正常な体重増加と著しい腫瘍縮小が認められた。

以上のことより、LDL 付加 MTX 内包シリカナノ粒子は、LDL 受容体を標的とし癌細胞でアポトーシス誘導を惹起する能動的ターゲティング製剤であることが示唆された。

Ⅲ. プロジェクト研究 抄録

— 神経・運動器・生殖・循環 —

課題番号：R03 基-081

研究課題：高次脳中枢からの多重支配による嗅覚神経回路の調節機構

研究代表者名（所属）：樋田 一徳（解剖学）

共同研究者名：佐藤 慧太、堀江 沙和

嗅覚系一次中枢嗅球における嗅覚情報処理機構に注目し。これまで明らかにした縫線核からのセロトニン 5HTニューロン (Suzuki et al 2015)、対角帯水平脚 HDB からのアセチルコリンAchニューロン (Hamamoto et al 2017)、青斑核からのノルアドレナリン NAニューロン (Horie et al 2021) の3種の遠心性投射ニューロン層別の線維密度と受容体分布について定量解析した。

5HTは糸球体層GL、GCL、外網状層EPLの順に線維分布が多く、AchはGL、GCL、outer EPL、inner EPLの順に、またNAは、GCL、inner EPL、outer EPL、GLの順に線維分布が多かった。一方5HT受容体はGL、EPL、GCL、Ach受容体はGL、EPL、GCL、そしてNA受容体はGL、EPL、GCLの順に存在密度が高かった。

一昨年度より解析を始めたヒスタミン (His) ニューロンは、視床下部乳頭体核 (Tmn) を起始核とし、嗅球では深部GCLに細い線維が見られた。合成酵素のヒスチジン脱炭酸酵素

(histidinedecarboxylase: HDC) の免疫染色ではGCLに最も多く、GLにも僅かにHDC線維が見られた。現在 Histamin-Cre mouse と新たに導入したアデノ随伴ウイルスAAVと組み合わせた単一ニューロン標識し解析を進めている。

課題番号：R03 基-036

研究課題：女児てんかん原因遺伝子 PCDH19 の脳発生における役割の解明

研究代表者名（所属）：林 周一（解剖学）

PCDH19 関連症候群は、乳幼児期の女児において、てんかんを発症する難病である。この病気の原因は、X染色体上の細胞間接着因子プロトカドヘリン 19 (PCDH19) 遺伝子の変異または欠失によることが示されている (Dibbens et al., 2008)。女性では、発生過程で片方のX染色体がランダムに不活性化されるため、PCDH19 変異/欠失をもつヘテロ接合型の女性の大脳皮質では、野生型の PCDH19 をもつニューロンと変異型 (機能喪失型) の PCDH19 をもつニューロンがモザイク状に分布する。その結果、PCDH19 を介したニューロン同士の接続が阻害され、てんかんを発症するという細胞干渉説が有力である (Gecz and Thomas, 2020)。申請者はこれまでに、抗 Pcdh19 抗体を用いて Pcdh19 タンパク質の局在を調べてきたが、抗体の強さが十分でなく、その局在の詳細は明らかでなかった。そこで本研究は、Pcdh19 遺伝子の 3' 末端にタグをつけたノックイン (Pcdh19KI) マウスを用いて Pcdh19 タンパク質の局在を明らかにし、Pcdh19 欠損/変異によって脳発生の異常が起こる可能性のある回路を特定することを目的とした。

医用生物研究ユニットの協力のもとに、Pcdh19 遺伝子の 3' 末端に対するガイド RNA と Cas9 タンパク質、Pcdh19 遺伝子の 3' 末端の配列とタグ配列をコードしたドナーオリゴをエレクトロポレーションにより受精卵に導入し、Pcdh19KI マウスを作製することに成功した。現在、F1 世代が得られており、その解析を行っている。

課題番号：R03 基-009

研究課題：薬剤による膀胱上皮細胞の剥離と臨床的応用

研究代表者名（所属）：横西 哲広（解剖学）

間質性膀胱炎 (Interstitial cystitis; IC) は、最表層の上皮細胞の機能障害によって頻尿・尿意亢進・尿意切迫感・膀胱痛などの慢性膀胱炎の症状を呈する。IC は、適切なモデルマウスが作成されておらず、根治的治療法はいまだ確立されていない。申請者はマウス精細管内にベンザルコニウム塩化物

(Benzalkonium Chloride; BC) を注入すると、精細管上皮であるセルトリ細胞を選択的に除去することを見出した (Yokonishi, Nat commun., 2020)。本研究では、BC の膀胱内注入による膀胱上皮細胞の障害・除去によって IC モデルの作成が可能か検討した。

メスマウスの膀胱に 0~0.1%BC を注入した。極低濃度 BC 投与では、膀胱の最表層の上皮が剥離されたが、0.08%BC では、膀胱の全上皮層が全て除去された。上皮下への影響を HE 染色と免疫染色により観察すると、血管構造や筋層、間葉系細胞への明らかな影響は認めなかったが、急性炎症所見が得られた。以上の結果から、極低濃度 BC の反復投与で IC モデルが作成できると期待された。今後は、極低濃度の BC 反復投与による膀胱への機能検査や炎症像を解析し、IC モデルマウスとして応用できるか検討する。さらに、0.08%BC 投与によって、IC モデルマウスの全上皮細胞を除去し、膀胱上皮細胞移植による IC の根本的治療の開発を試みる。

課題番号：R03 基-061

研究課題：嗅球に投射する前脳基底部 GABA ニューロンの形態的解析

研究代表者名 (所属)：佐藤 慧太 (解剖学)

哺乳類の嗅覚の情報伝達において、鼻腔において嗅上皮細胞が受容した嗅覚情報は、嗅神経を介して嗅覚の一次中枢である嗅球へと伝達される。嗅球は、様々な脳領域より遠心性の神経線維の入力を受け、脳中枢からの嗅覚情報伝達の調整を受ける。前脳基底部のブローカの対角帯水平脚/大細胞性視索前核 (HDB/MCP0) は、記憶や睡眠と強い機能的関連がある脳領域の 1 つである。HDB/MCP0 には、抑制性神経伝達物質 GABA を含有する GABA 作動性ニューロン (GABA ニューロン) が多数存在し、この中には特異的にパルブアルブミン (PV) を含有する PV ニューロンも含まれる。これらの抑制性の神経線維が、HDB/MCP0 より嗅球へ投射し、前脳から嗅覚神経回路を抑制的に直接制御する神経回路として作用していることが予想される。しかし、HDB/MCP0 に存在する神経細胞のうち、嗅球へ投射する非アセチルコリン作動性ニューロンの投射様式や投射する細胞の分布、その化学的な特徴の解明はなされていない。

そこで本研究では、マウスにおいて逆行性神経トレーサー-FluoroGold (FG) を嗅球深部に注入し、嗅球へ投射する神経線維を特異的に標識した。結果、HDB/MCP0 の尾側に FG 陽性、つまり嗅球に投射するニューロンが多く存在し、そのうち半数以上が GABA 合成酵素 GAD67 を発現していた。さらに、この中には PV 陽性を示す細胞も含まれ、HDB/MCP0 から PV ニューロンが嗅球へと投射することが明らかになった。

課題番号：R03 基-047

研究課題：核内受容体 NR5A1 による性行動制御機構の解明

研究代表者名 (所属)：嶋 雄一 (解剖学)

核内受容体型の転写因子である NR5A1 (別名 Ad4BP または SF-1) は、生殖機能に関わる様々な組織に発現しており、神経系組織においては視床下部腹内側核 (ventromedial hypothalamic nucleus, VMH) の神経細胞に特異的に発現している。我々はこれまでの研究から、*Nr5a1* 遺伝子の第 6 イントロンに、VMH における NR5A1 の発現を制御するエンハンサー (VMH enhancer, VE) を同定し、最近、ゲノム編集によって VE を欠失させたマウス (*Nr5a1*^{ΔVE} マウス) を作出した。*Nr5a1*^{ΔVE} マウスは、生殖腺や外生殖器の形態に明らかな異常を認めなかったが、雌雄ともに不妊であった。このため性行動の異常を疑い、麻布大学獣医学部 菊水健史教授との共同研究により性行動の解析を行ったところ、予想通り、性行動の頻度が有意に低下していた。一方、抗 NR5A1 抗体を用いて免疫染色を行なったところ、VMH の NR5A1 陽性ニューロンの数が明らかに減少していたが、一部は残存していた。NR5A1 陽性ニューロンは、性行動の他にエネルギー代謝にも関与していることから、上記の結果は、VMH の NR5A1 陽性ニューロンには機能的不均一性があり、*Nr5a1*^{ΔVE} マウスでは性行動を制御するニューロンのみが機能を喪失したと推測された。今後、VMH ニューロンの単一細胞解析を行うことにより、この仮説を検証する予定である。

課題番号：R03 基-073

研究課題：生後脾臓組織の形成過程における Ad4BP の発現とその機能

研究代表者名（所属）：小野 公嗣（解剖学）

Ad4BP は核内受容体型の転写因子であり、ステロイドホルモン産生組織である副腎や生殖腺の発生に必須の因子であることが報告されている。我々は、*Ad4BP* 遺伝子の組織特異的エンハンサー領域を探索する過程で、本遺伝子の脾臓エンハンサー（Spleen enhancer, SpE）を同定し、その欠損マウスの作製に成功した。Ad4BP が発現する脾臓の杆状内皮細胞については、これまでその分化メカニズムは不明であった。本研究では、Ad4BP の発現を EGFP で検出できる Ad4BP-BAC-EGFP マウスを用いた形態学的解析により、いつから Ad4BP が発現し機能しているかについて検証を試みた。

生後 3、5、7、14、21、28 日齢の Ad4BP-BAC-EGFP マウスの脾臓の HE 染色を観察したところ、5 日齢で白脾臓の形態がはっきりと現れ始め、日齢とともに成長し、21 日齢で成熟した形態が観察できた。次に、Ad4BP の発現を検出するために、EGFP 抗体を用いて免疫染色をおこなった。その結果、3 日齢の組織でははっきりとは検出できなかったが、5 日齢以降では、脾臓の杆状内皮細胞の核にシグナルが検出できた。

以上の結果から、Ad4BP は杆状内皮細胞の機能分化に重要な因子であり、また杆状内皮細胞が脾臓形成過程で大きな役割を果たしている可能性が示唆された。

課題番号：R03 基-068

研究課題：X線位相差CTによる非固定心室標本の微細構造可視化とマルチスケール拡張機能評価法の確立

研究代表者名（所属）：毛利 聡（生理学1）

共同研究者名：橋本 謙、花島 章、臼居 優

目的：心臓の機能は収縮能・拡張能に大別され、それぞれの低下が原因となり収縮障害性心不全もしくは拡張障害性心不全が生じる。収縮障害性心不全に関しては発症機序や治療法の研究が進められてきたが、拡張障害性心不全に関しては病態生理も不明な点が多く残されている。心室の拡張機能とマクロ構造レベルの評価には、非固定標本を用いた心室容積を変化させての計測と心室微細構造を描出するための十分な空間分解能が必要であり、本研究では SPring-8 における X 線位相差 CT を用いて微細構造の可視化に取り組んだ。方法：麻酔下にラットの心臓を摘出し、50mM の 2,3-Butanedione 2-monoxime (BDM) にて灌流して弛緩状態で停止させた。ラットでは左心室内にエコーゲルを充填し、異なる左心室容積で撮影を行なった。ヤツメウナギ やロブスターはそれぞれ軟骨カプセルと外骨格によって心室拡張が制限されているため、注射針を心室内に刺入してアガロースゲルで充填・冷却して計測標本を作成した。撮影は X 線タルボ干渉計を用いた位相差 CT 装置で行い、3次元画像構成は解析ソフト Driciti にて行った。結果：ラット左心室では、非固定同一標本を用いて心室拡張容積の増加に伴って心内膜側の微細な肉中が伸展される様子が観察された。また、ヤツメウナギ の心臓では心房・心室のスポンジ様微細構造や房室弁・動脈弁を観察し、ロブスター心臓では心室を外部から伸展・拡張させる靭帯などの構造物を可視化することが出来た。

課題番号：R03 基-042

研究課題：心傷害に対する Fam64a の一過性導入による心筋再生戦略の構築

研究代表者名（所属）：橋本 謙（生理学1）

共同研究者名：毛利 聡、西松 伸一郎、花島 章、臼居 優

心不全治療の実現には成体心筋細胞の分裂能の回復が必須である。しかし、心筋分裂には先行する脱分化とそれに伴うサルコメア構造の一時的な分解、即ち、幼若化による収縮力低下が付随する為、過剰な分裂刺激は心機能を低下させ得る。これは心筋再生における本質的且つ不可避のジレンマであり、その克服なしに心筋再生の実現はない。実際、我々が同定した分裂促進因子 Fam64a を出生後長期にわたって過剰発現するマウスでは、期待通り心筋分裂は促進されたが、過剰な脱分化により心機能が悪化し

た。分子機構を検討したところ、Fam64a が糖質コルチコイド受容体と複合体を形成し、心筋分化を促進する転写因子 Klf15 を阻害することで心筋を脱分化させることが明らかとなった[論文投稿中]。そこで本研究では、心臓冷却傷害を施した成体マウスに Fam64a を一過性に導入することにより脱分化を最小化しつつ心筋分裂促進と心機能回復を実現する為の最適プロトコルを検討した。その結果、合成 mRNA を傷害心筋近傍に直接投与することにより、局所的且つ一過性(最大7日)の Fam64a 発現が誘導され、これにより、傷害後5週にわたり、心筋細胞周期の促進(マーカー分子の発現増加)、心線維化の抑制(マッソン染色)、及び心機能の回復(心エコー解析)を実現できた。この時、心筋脱分化は殆ど起こっていなかった。今後は、冷却傷害/心筋梗塞の強度や傷害範囲を変化させ、各々の傷害条件に対する最適プロトコルを決定し、将来的な心筋再生の実現を目指す。

課題番号：R03 基-050

研究課題：バネ分子コネクチンを介した圧力過負荷による心不全発症の分子機構解明

研究代表者名(所属)：花島 章(生理学1)

共同研究者名：毛利 聡、橋本 謙、臼居 優

心臓は高血圧などの力学的環境変化に対して心筋細胞の肥大を介したポンプ機能調節によって適応するが、長期的にはこの適応機構も破綻して心不全に至る。しかし、圧力過負荷によるバネ分子コネクチンを介した心不全発症の分子機構は解明されていない。本研究では、コネクチンに結合する新規蛋白質を同定した。新規結合蛋白質は核膜分子 Nesprin-1 にも結合し、成体心筋細胞ではコストメアに局在した。新規結合蛋白質 KO マウス心臓の構造と機能は正常だったが、心筋細胞におけるコネクチンの発現が変化していた。また、KO 心筋細胞では、PI3K-Akt シグナル伝達経路が変動しており、Serca2a の発現量増加と phospholamban のリン酸化により、筋小胞体における Ca²⁺ハンドリングが亢進していた。さらに KO 心筋細胞ではミトコンドリアの整列と融合が異常で、恒常的な ATP 産生増加のストレス状態にあり、予備呼吸能を失っていた。そして、KO マウスの多くは、大動脈狭窄術による急性圧負荷で致死性不整脈もしくは急性心不全により短期間で死亡し、慢性圧負荷で長期的なメカニカルストレスによって心不全が悪化した。従って新規結合蛋白質は PI3K-Akt シグナル伝達経路を介して心筋細胞肥大、Ca²⁺動態、ミトコンドリア代謝を調節することで、メカニカルストレスによる心不全進行を防いでいることが明らかとなった。

課題番号：R03 ス-005

研究課題：水産脊椎動物の心室圧・容積関係に関する研究

研究代表者名(所属)：臼居 優(生理学1)

共同研究者名：毛利 聡、橋本 謙、花島 章

心室拡張機能は心室の剛性、心室壁の肥厚、心室心筋の弛緩といった複数のパラメーターにより規定され、生活環境や習慣の影響も強く受けながら最適化されている。本研究では、成長の過程で生活圏を移行する生物を用いて、心室拡張機能の変化を調べた。

日本周辺に生息するサケ科の遡河回遊魚 *Oncorhynchus masou masou* は、河川で孵化し、海で成熟した降海型をサクラマス、河川で一生涯を過ごす残留型をヤマメと呼び分ける。両者は同じ魚であるにも関わらず、見た目が大きく異なっている。本研究では、サクラマスとヤマメの心室拡張期末圧-容積関係(EDPVR)について解析し、サクラマスの心室はヤマメのそれに比べて硬いことを見出した。また、サクラマスの心室ではヤマメに比べて心筋量の増加と線維化の進行が認められ、心室硬化への関与が示唆された。サクラマスは約1年かけて、日本海からオホーツク海を回遊したのち、産卵のために母川に遡上する生活史を有する。サクラマスの長距離移動は、筋肉質で硬い心室にすることで心臓のポンプ機能を効率化したことにより可能になったのかもしれない。

課題番号：R03 基-057

研究課題：脳浮腫による脳組織における遺伝子損傷の解析

研究代表者名（所属）：中村 丈洋（生理学 2）

共同研究者名：氷見 直之、丸山 恵美

【はじめに】脳浮腫とは脳実質内に異常な水分貯留を生じて脳容積が増大した状態で、頭部外傷や脳出血、脳梗塞などの疾患に付随して発症する。重篤な場合脳ヘルニアを引き起こし死に至るため、バイオマーカーの発見は病態の予後予測や治療効果判定などに重要である。本研究は純粋な脳浮腫を誘発できる水中毒モデルを用いて遺伝子損傷を週齢別に解析し、脳浮腫急性期における治療的時間域などを検討することを目的とした。【方法】C57BL/6J マウス（♂、5～52 週齢）に体重の 10%の蒸留水を腹腔内投与し、sham 群、水投与後 1, 2, 3, 6 時間群を作成、脳組織摘出直後と乾燥後(120℃、24 時間)の重量を測定して脳水分含有率を算出した。また同様に脳組織から DNA 及びタンパク質を抽出、8-OHdG と caspase3 を解析した。【結果】水分含有率は 1 時間後に上昇し 6 時間後には元に戻る。2 時間後の水分含有率は 5, 20 週齢では上昇したままだが 8～14 週齢では減少に転じた。8-OHdG および caspase3 の活性は 5 週齢ではいずれも変化が見られなかったが、14、20 週齢では 2 時間後に上昇、6 時間後には sham 群と同程度に戻った。【結論】蒸留水投与 2 時間後には DNA の損傷やアポトーシスの可能性がみられたことから、本モデルは脳浮腫による神経の損傷度合いを時系列で調べることができ、今後の脳浮腫のバイオマーカーの模索などに有効であることが示唆された。ただし週齢によって異なる結果を示したことからモデル動物の週齢を考慮する事が重要である。

課題番号：R03 基-038

研究課題：脳虚血後の各種運動療法によるマイオカイン群の動態および効果の解析

研究代表者名（所属）：氷見 直之（生理学 2）

共同研究者名：中村 丈洋、丸山 恵美

運動の種類による筋由来の栄養因子（マイオカイン）群の分泌動態を解析中である。5 週齢の雄ラットを無作為に、①強制運動群（トレッドミル走行：勾配 5°、15m/分×30 分を 14 日間）、②自発走行群（running wheel 付きケージにて 14 日間飼育、平均 5,000m/日以上走行したラットを採用）、③電気刺激群（前脛骨筋および腓腹筋を皮膚上の電極にて刺激 10 分×14 日間）および④坐骨神経切断群（下肢筋群の随意運動を不可能とした比較対象群）に分けた。それぞれの運動終了後、坐骨神経切断群については切断 14 日後に前脛骨筋および腓腹筋を摘出、抽出し ELISA にて BDNF、IGF-1、Western blot にて irisin、cathepsin B を測定した。R2 年度プロジェクト研究では運動開始 7 日後において運動群間でマイオカイン発現量に有意な差は見られなかったため、今回は運動開始 14 日後にて測定を行った。14 日後においても運動群間でマイオカイン発現量に有意な差は見られなかった。筋で産生されたマイオカイン群が早期に血液へ放出されている可能性を考え、血漿中のマイオカイン濃度を測定中である。一方、血中乳酸濃度は、電気刺激群において刺激直後に有意に上昇していた。他の運動群は運動前後で有意な変化はみられなかったが、強制運動群で運動強度を高くしていくと運動強度が高くなるに伴い運動後の血中乳酸濃度は上昇した。

課題番号：R03 基-067

研究課題：壁在血栓を有するいわゆる shaggy aorta 症例における寒栓合併症のリスクファクターの検討

研究代表者名（所属）：金岡 祐司（心臓血管外科学）

共同研究者名：種本 和雄、柚木 靖弘、山澤 隆彦、田淵 篤、赤木 大輔、田村 太志、山根 尚貴、渡部 芳子、栗田 憲明

【背景】大動脈瘤に対する治療はステントグラフトを用いた血管内治療により外科手術ハイリスク症例に対しても治療介入することができるようになってきた。しかし、大動脈の正常径部分にも多くの壁在血栓をゆうするいわゆる shaggy aorta に対する治療は手術でも血管内治療でも壁在血栓が飛散して脳梗塞、内臓、下肢への塞栓をおこしやすく、現状の大動脈流治療において改善が必要な病態である。

【方法】 Shaggy aorta についてはその成因、予後、治療法など不明な点が多い。また、壁在血栓を有する大動脈は血管内皮機能の障害があり、血管が脆弱で拡大しやすいとの意見もある。さらに、Shaggy aorta を有する大動脈瘤の治療適応、治療法なども controversial である。そこで Shaggy aorta を有する大動脈瘤について、動脈瘤の拡大速度、治療成績、中長期成績、塞栓合併症発生のリスクファクターについて以下の如く検討したい。

1. shaggy aorta 症例の大動脈瘤の拡大速度を CT で評価する。

2. shaggy aorta 症例の大動脈瘤手術症例手術時の塞栓合併症のリスクファクターの検討

Shaggy aorta 症例の大動脈瘤手術症例において術前の採血により D ダイマー、fibrinogen、白血球数、好酸球割合、好酸球数、クレアチニン (Cr) 値、eGFR、総コレステロール、HDL、LDL-コレステロール値を測定。術前の CT で壁在血栓の量、壁在血栓不整度 (壁在血栓の内腔面の長さ/血管外周の長さ)、壁在血栓の性状 (CT 値、MRI) も測定。さらに治療法、治療成績、特に脳梗塞などの塞栓合併症の有無を観察。

まだ、研究成果がまとまっていないので鋭意進行中である。

課題番号 : R03 基-029

研究課題 : 下肢静脈瘤血管内レーザー治療のレーザー波長の違いによる治療効果の検討

研究代表者名 (所属) : 田淵 篤 (心臓血管外科学)

【目的】 波長 1470nm および 980nm による下肢静脈瘤血管内レーザー治療 (EVLA) の治療成績、自覚・他覚症状および静脈機能の改善を比較検討する。【対象、方法】 1470nm EVLA 73 肢 (2020 年 9 月-2022 年 3 月) および 980nm EVLA 1256 肢 (2011 年 10 月-2019 年 12 月) を対象とした。術翌日、7-10 日、1、6、12 ヶ月で経過観察し、超音波検査で治療血管閉塞、血栓性合併症の有無を検討した。自覚・他覚症状の改善の指標として Venous Clinical Severity Score (VCSS) を検討し、静脈機能は空気容積脈波法で Venous Filling Index (VFI)、Venous Volume (VV) を測定して術前後値を比較し、両群間で比較検討した。【結果】 術後の焼灼部疼痛は 1470nm: 12.3%、980nm: 55.7%、皮下出血は 1470nm: 6.8%、980nm: 26.0% にみられ、1470nm で有意に低値であった。EHIT class3 は 1470nm: 0、980nm 1.1%、12 ヶ月の治療血管閉塞率は 1470nm: 100%、980nm: 98.1% であった。自覚・他覚症状、静脈機能は両群とも術後有意に改善し、両群間で有意差はなかった。【結語】 1470nm EVLA の早期治療成績、安全性、術後の自覚・他覚症状および静脈機能の改善は 980nm と同等以上で良好であった。

課題番号 : R03 基-092

研究課題 : 血管内視鏡を用いた下肢閉塞性動脈疾患に対する血管外科治療における「健常」部位と治療対象部位の血管性状解析

研究代表者名 (所属) : 赤木 大輔 (心臓血管外科学)

共同研究者名 : 種本 和雄、金岡 祐司、渡部 芳子、柚木 靖弘、栗田 憲明

【研究目的・背景】 血管病は全身病であり部位によらず動脈硬化性変化が認められる。「健常な部位」を判断し、それを基に血管内治療 (EVT) を含めた血管外科治療システムを構築することは容易でない。これは病変がびまん性で「健常」に定義がないためである。適切な「健常」の定義のための画像診断デバイスとして血管内視鏡に注目し、EVT での活用の検討を目的とした。

【方法手法】 浅大腿動脈閉塞性病変に対する EVT 施行時に血管内視鏡「OVALIS® イメージングシステム」を施行した 1 例 1 肢を検討した。観察用カテーテルにはガイドワイヤールーメンのある Forwardlooking® を用いた。

【研究結果】 症例を提示する。70 歳男性。浅大腿動脈閉塞に対してステントグラフトバイアバーン® を留置し、ステントグラフトエッジに狭窄を示した症例。エッジ狭窄部の内膜肥厚は白色調で、狭窄部のみならず遠位まで内腔変化は進展していた。

【考察・結論】 本検討で用いた細径の「Forwardlooking®」はやや視野が狭く、太く画素数に勝る

「Zemporshe®」の応用も進めるべきであると考えられた。今後 EVT にとどまらず、動脈硬化に関するト

ランスレーショナルリサーチ推進のための基礎となる臨床データの蓄積は必要である。本研究で「健常」血管を治療システムに組み込むことを目的とした血管内視鏡の応用に関して一步を踏み出し引き続き検討を重ねる。

課題番号：R03 基-085

研究課題：加齢性膀胱機能障害の病態解明と新規予防策の探求

研究代表者名（所属）：大平 伸（泌尿器科学）

共同研究者名：中塚 騰太、森中 啓文、高崎 宏靖、平田 啓太、永井 敦

【目的】本邦では、60歳以上の約80%が下部尿路症状を有しており、加齢が危険因子となっている。しかし、加齢により膀胱機能障害に至る機序は明確にされておらず、加齢モデルマウスを用いて膀胱内の変化を検証した。

【方法】実験動物は、C57BL/6J マウス、雄性、20・40・60・80 週齢を使用し、20 週齢をコントロール群とした。膀胱内における機能変化は膀胱内圧測定検査により解析し、組織学的変化は電子顕微鏡、光学顕微鏡により解析した。膀胱を含む全身性の酸化ストレス変化は、d-ROM、BAP 検査により解析し、膀胱内における局在は8-OHdG 免疫染色により解析した。

【結果】膀胱機能解析では、加齢に伴う排尿筋過活動と低活動が混在する所見が認められた。形態組織学的解析では、加齢に伴う膀胱移行上皮の菲薄化、間質から筋層にかけての線維化が認められた。酸化ストレス解析では、膀胱を含む全身性に抗酸化力の低下が先行し、続いて酸化ストレスの過剰産生を認めた。膀胱内では膀胱上皮と間質から筋層の二相性に分かれて、8-OHdG の高い染色性を確認した。

【結論】加齢により抗酸化力の低下が先行し、続いて酸化力の上昇が認められた。膀胱内では上皮と間質から筋層の二相性に分けて酸化ストレスの過剰産生を認め、膀胱機能障害に至るものと考えられた。抗酸化力の低下は、加齢性膀胱機能障害の病態を早期に反映するバイオマーカーとなる可能性がある。

課題番号：R03 基-059

研究課題：カベオリン-3/nNOS を起点とする筋ジストロフィーの病態治療研究

研究代表者名（所属）：大久保 浩平（神経内科学）

共同研究者名：大澤 裕、西松 伸一郎、砂田 芳秀

1987年、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因蛋白質としてジストロフィンが同定された。以来、筋ジストロフィーの様々な原因蛋白質が同定されているが、その発症に至る病態の全容は明らかとなっていない。我々が作出した肢帯型筋ジストロフィー（LGMD1C）の疾患モデルであるカベオリン-3欠損マウス（CAV3^{P104L} Tg）は、著明な筋萎縮を呈する。興味深いことにジストロフィン糖蛋白質複合体のうち、唯一の酵素である神経型NO合成酵素（nNOS）の活性が亢進していた（Sunada, et al. Hum Mol Genet 10: 173-8, 2001）。本研究は、この活性亢進の意義を明らかとするため、カベオリン-3/nNOS 二重欠損マウスを作出し、筋鞘膜 nNOS 活性が骨格筋量制御にどのような役割を果たしているのかを探った。これまでに、カベオリン-3欠損マウス（CAV3^{P104L} Tg）と nNOS 欠損マウスを交配して、野性型、カベオリン-3欠損、カベオリン-3・nNOS 二重欠損、nNOS 欠損マウスの作出に成功した。2021年度は、それぞれの遺伝子型を示すマウスの骨格筋解析により、筋鞘膜 nNOS 活性と骨格筋量の相関を検証した。また、カベオリン-3欠損から nNOS 活性化に至る分子機構について、骨格筋の遺伝子発現を網羅的に比較解析し、筋量制御機構の詳細について検討している。

課題番号：R03 基-008

研究課題：JAK2 遺伝子変異による脳梗塞の発症機序解明に関する研究

研究代表者名（所属）：大山 直紀（脳卒中医学）

共同研究者名：八木田 佳樹、岩本 高典

これまで骨髄増殖性腫瘍患者（N=54）の検討において、JAK2 遺伝子変異と脳動脈狭窄やアテローム血

栓性脳梗塞（ATBI）に関連性があることを報告した。本研究では、脳血管障害患者における JAK2 V617F 遺伝子変異の割合を調べ、その臨床的特徴を明らかにすることを目的とした。

当科に入院した脳血管障害患者 112 名（年齢中央値 54 歳、男性 78 例）において、JAK2 遺伝子変異、脳梗塞の臨床病型、血管病変、塞栓源性心疾患等について採血結果や診療録よりデータ収集を行った。

脳血管障害 112 名のうち脳梗塞は 104 例あり、臨床病型別では、小血管病 33 例、ATBI 28 例、心原性脳塞栓症 12 例、その他の原因 7 例、原因不明 24 例であった。50%以上の血管狭窄は 54 例、JAK2 遺伝子変異陽性は 2 例に認められた。1 例は 74 歳男性で高血圧および右中大脳動脈閉塞に対して STA-MCA バイパス術を施行された既往あり、今回左中大脳動脈狭窄による ATBI を発症した。入院時血小板数は 40.5 万/ μ L であり、本態性血小板血症（ET）の診断基準（持続的 45 万/ μ L 以上）を満たしていなかった。2 例目は 85 歳男性で高血圧・糖尿病・脂質異常の既往があり ET に対して通院加療中であったが、右内頸動脈に不安定プラークを伴う中等度狭窄があり、同部位からの ATBI を発症した。入院時血小板数は 46.6 万/ μ L であった。

JAK2 遺伝子変異陽性は 2 例と少数であるが、いずれも ATBI 症例であり、引き続き症例を増やして検討する必要がある。

課題番号：R03 基-072

研究課題：生殖領域におけるサイトカインの機能解析についての検討

研究代表者名（所属）：下屋 浩一郎（産婦人科学 1）

共同研究者名：村田 卓也、杉原 弥香、松本 桂子、齋藤 渉

【対象】

香川県丸亀市厚仁病院において 2019～2020 年に低刺激周期法（クロミッド+hMG）により排卵誘発・採卵を行い、体外受精-胚移植を施行した 142 例。

【測定方法】

卵胞液中および血清中の 3 種類のサイトカイン濃度を ELISA 法を用いて測定した。Quantikine ELISA Human IL-1ra/IL-4/IL-1ra（R&D Systems a biotechne band）を用いて測定した。また、血中エストラジール値の測定も行った。

【解析方法】

受精後に胚盤胞に到達した群（到達群：46 例）と到達しなかった群（非到達群：96 例）との比較および胚盤胞の Grade 別（良好胚とされる Grade AA 群（18 例）および AA 以外の群（28 例））と非到達群の 3 群比較を行った。

【結果】

全症例を対象での 2 群間比較では血清 IL-17A に有意差（ $p < 0.05$ ）を認めた。3 群間比較でも同様に、血清 IL-17A において有意差を認めた。女性因子を除いた男性因子と原因不明因子のみでの 3 群間においても同様に血清 IL-17A において有意差を認めた。エストラジオール値、E2 /採卵時 14mm 以上の卵胞数、E2 /採取卵子数のいずれも胚盤胞到達の有無及び胚盤胞の Grade での 3 群間に有意差は認めなかった。

【考察】

血清 IL-17A の測定は、採卵時のエストラジオール測定よりも有益な卵の質評価の指標となりうる可能性があり、血清 IL-17A 測定により不要な採卵を回避し、採卵に伴う疼痛・出血・感染などのリスクを軽減し得ると考えられる。

課題番号：R03 基-083

研究課題：ストレスホルモンを併用した胎児心拍数陣痛図の解釈と分娩時介入のタイミングならびに新生児予後についての検討

研究代表者名（所属）：杉原 弥香（産婦人科学 1）

共同研究者名：下屋 浩一郎

【目的】産婦人科では分娩時に母児の状態を把握する目的で胎児心拍数陣痛図（CTG）という監視装置を使

用する。CTGは広く使用されているにも関わらず、新生児予後改善という目標は達成されていない。検査の利点として高い感度が挙げられ、胎児心拍数波形に異常がなければ良い予後を予知することができる。検査の限界として低い特異度が挙げられ、胎児心拍数波形が異常であっても必ずしも悪い予後を予知しない。CTGと臍帯動脈血ガスの乖離はしばしば認められることがある。また僅かではあるが、胎児心拍数波形に重篤な異常を認めていなかった場合でも児のアシドーシスが進行している場合もある。この胎児心拍数波形と臍帯動脈血ガス分析の乖離をできるだけ少なくし、不要な帝王切開を避け、新生児予後改善を目指すべく前向き研究を行った。

【方法】分娩時の胎児が受けるストレスをCTGモニターの一過性徐脈の面積の総和と各種ストレスホルモン(コルチゾール、DHEA、テストステロン、アミラーゼ)で評価し、分娩時に母児にとって適切な介入ができるよう検討した。

【結果】今回の症例では胎児機能不全から急速遂娩を要する症例はなく、全例臍帯動脈血ガスpHは良好であり、新生児アウトカムも良好であった。

臍帯血中コルチゾールが胎児のストレスを反映している傾向があったが、今後症例数を増やして胎児機能不全から急速遂娩が必要となった症例なども含めて更なる検討が必要と考える。

課題番号：R03基-087

研究課題：炎症性骨破壊におけるアンジオテンシンⅡおよび骨細胞の役割の解明

研究代表者名(所属)：守田 吉孝(リウマチ・膠原病学)

共同研究者名：向井 知之、赤木 貴彦

【目的】アンジオテンシンⅡ(AngⅡ)は骨代謝でも役割を有することが報告されている。我々は過去に、骨破壊性関節炎を自然発症するTNFトランスジェニック(TNFtg)マウスに対し、AngⅡの持続投与が骨破壊を有意に増強することを明らかにした。また、AngⅡタイプ1受容体(AT1R)欠損マウスとTNFtgマウスを交配した2重変異マウスの解析では、内因性AngⅡは炎症性骨破壊に影響を与えないことを報告している(Akagi T, et al. Int J Mol Sci 2020)。本研究では骨細胞特異的AT1R欠損マウスを作成し、骨細胞でのAT1R欠損が関節炎・骨破壊に与える影響を評価する。【方法】骨細胞特異的なCre発現系統Dmp1-Creマウスを用い、骨細胞特異的AT1R遺伝子欠損(AT1R flox1/flox; Dmp1-Cre)マウスを作成、さらにTNFtgマウスと交配して、3重変異マウスを作成した。TNFtgと骨細胞特異的AT1R欠損はTNFtgマウスの16週齢時に、関節炎の評価として足関節腫脹を、全身骨への影響を評価として腰椎の骨量を、それぞれ測定した。【結果】骨細胞特異的AT1R欠損はTNFtgマウスの関節炎スコア、腰椎の骨量に有意な差は認めなかった。【結論】関節炎モデルにおける骨細胞特異的AT1R欠損は、関節炎の重症度や全身骨に対して影響を与えない可能性が示唆された。

課題番号：R03基-089

研究課題：治療抵抗性関節リウマチに対するDNA脱メチル化酵素を標的とするエピゲノム創薬

研究代表者名(所属)：中野 和久(リウマチ・膠原病学)

共同研究者名：守田 吉孝

【目的】関節リウマチ(RA)においては、DNAメチル化異常が滑膜の攻撃的な表現型に関与することが示唆されている。本研究では、炎症によるDNA脱メチル化酵素TET3のRA線維芽細胞様滑膜細胞(FLS)の機能を明らかにする。【方法】患者由来培養滑膜細胞(FLS)を使用し、TET3依存性にTNFで誘導される遺伝子群を明らかにするために、siRNAを用いてTET3をノックダウンし、TNF刺激の有無で、DNAマイクロアレイを使って網羅的に発現遺伝子の差を評価した。【結果】FLSにおいて、TNF刺激の有無、TET3ノックダウンの有無による4群間で発現に有意差が示された遺伝子において、クラスター解析を行った。52個のTET3介在性TNF誘導性遺伝子が抽出され、好中球の遊走に関与するCXCL8, CXCL5などのCXC-ケモカイン、MYOCD, CNN1, ITGB3などのmigrationに関与する遺伝子、LIFやIL1Bなど炎症をさらに増幅させる遺伝子、KIT, RELBなどのproto-oncogenes、IFI44LやOAS1, RSAD2などのIFN誘導性遺伝子、TNFAIP3やFADS2などのRAリスクSNP遺伝子の他、NEFM, SCG2, NTRK3などの神経系に関

与する遺伝子が見つかった。【結論】RA の FLS において、TNF- TET3 axis によって発現調節される遺伝子群が新たに示された。

課題番号：R03 基-090

研究課題：骨細胞様細胞と炎症に着目した血管石灰化の病態解析～石灰化退縮を目指す新規治療戦略の探索～

研究代表者名（所属）：浅野 澄恵（リウマチ膠原病学）

共同研究者名：守田 吉孝、向井 知之、中野 和久

【目的】血管石灰化形成・進展における骨細胞様細胞および炎症性サイトカインの役割の解明を行い、骨細胞様細胞の機能調節による血管石灰化の進展抑制、更には石灰化の退縮を目指す治療法の探索を行なう。【方法】マウス血管石灰化モデルとして、摘出大動脈組織を高濃度リン存在下で培養し血管石灰化を誘導、マイクロ CT、von Kossa 染色、Alizarin red 染色にて石灰化を評価した。さらに、培養液にサイトカイン(TNF、IL1 β 、IL-6+sIL6R、IL17a)、RANKL を添加し、石灰化進展の差異を検討した。また、血管石灰化部位に存在する骨細胞様細胞の表面マーカーを確認するため、DMP1、MEPE、Sclerostin、Osteocalcin、Phalloidin で組織染色を行った。【結果】高濃度リン(2.6mM Na₂HPO₄/NaH₂P₄O₄)存在下で10日間培養したところ、摘出大動脈組織の中膜を中心に、マイクロ CT、von Kossa 染色、Alizarin red 染色のいずれでも血管石灰化を確認できた。培養液に IL17a を添加した群で有意に石灰化が進展した。血管石灰化組織内において骨細胞マーカーで染色される細胞は認められなかった。【結論】血管石灰化は IL-17a 投与で有意に進展したが、血管石灰化組織の骨細胞様細胞の同定には至らなかった。

課題番号：R03 基-100

研究課題：低線量かつ自由度の高い3次元的嚙下機能評価法の確立

研究代表者名（所属）：新井 伸征（リハビリテーション医学）

共同研究者名：花山 耕三、阿部 泰昌

【はじめに】以前我々は、正面像での造影剤嚙下時に X 線連続撮像を行い、画像の濃淡から食塊の質量重心を求め、嚙下時の食塊の左右移動を定量化する方法を確立した。今回、造影剤嚙下時の正面像および側面像の X 線連続撮像を行い、食塊の質量重心の3次元的な移動を定量化する方法について検討した。【対象】健康者20代女性の1名【撮影方法】使用装置：SONIALVISION safire 17(Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)X 線パラメーター(固定)：電圧 80kV 電流 20mA 照射時間 10ms 画像記録条件：7.5frame/second で撮影正面および側面においてそれぞれ、20 cc 水を1回と造影剤の入った水 20cc を5回の命令嚙下を行い、上記条件で撮像した。【解析方法】解析画像は、造影剤なしでの嚙下画像と造影剤ありの嚙下画像の差分を取ることで作成した食塊のみの陰影を抽出した画像を用いた。ImageJ®を使用して、正面像と側面像で食塊の陰影の質量重心を計測した。正面像、側面像それぞれについて5個の質量重心の移動パターンが記録されるが、それらの組合せで5×5の3次元パターンが作成される。これらのパターンが一樣であるかどうかについて比較、検討した。【結果】異なるタイミング撮像した画像であっても、一定の傾向を認めた。これより、同時に正面像および側面像を撮像しなくても、画像の濃淡を利用した食塊重心の3次元的移動の評価には利用できる可能性があると考えられた。

課題番号：R03 基-003

研究課題：網膜色素上皮細胞の光酸化によるメラニン生成作用の解明

研究代表者名（所属）：鎌尾 浩行（眼科学1）

【目的】加齢黄斑変性は中途失明の主要な原因疾患の1つで、網膜色素上皮細胞(RPE)の機能低下が病因である。このRPEの機能低下を引き起こす原因の一つに日光があり、これに対する防御機構として

メラニンがある。そこで培養 RPE に対して光照射を行い、可視光線の曝露による RPE のメラニン形成への影響を評価した。

【対象と方法】培養 RPE は市販されている胎児 RPE を使用し、光照射は 10000 lux の白色 LED 照射で行った。光照射による RPE への細胞障害を LDH 試験、酸化ストレスを細胞内の活性酸素種量、メラニン関連遺伝子 (MITF、TYR、TYRP1) の発現量を qRT-PCR、細胞内のメラニン量をプレートリーダーによる透過率で評価した。

【結果】24 時間の光照射後の細胞障害率は 0% で、光照射による細胞障害は認めなかった。活性酸素種量は光照射なしと比較し、6 時間が 1.1 倍、24 時間が 1.2 倍と有意差を認めなかった。メラニン関連遺伝子 (MITF、TYR、TYRP1) の発現量は光照射なしと比較し、MITF は 1 週後が 0.7 倍、4 週後が 1.4 倍、TYR は 1 週後が 1.4 倍、4 週後が 1.3 倍と有意差を認めなかったが、TYRP1 は 1 週後が 2.2 倍、4 週後が 1.8 倍と有意に上昇した。透過率は光照射なしと比較し 2 週後が 96%、4 週後が 88% と有意に低下した。

【結論】白色 LED 照射は RPE の細胞障害や酸化ストレスを誘導しなかった。細胞内のメラニン量は経時的に増加したが、メラニン関連遺伝子は TYRP1 のみ発現量が上昇した。このため光照射は TYRP1 を直接刺激し RPE のメラニン形成を誘導する可能性がある。

課題番号：R03 基-033

研究課題：単色 X 線を用いた生体内におけるイミペネム・シラスタチンの一次塞栓物質としての血管内動態の観察

研究代表者名 (所属)：林田 稔 (放射線診断学)

共同研究者名：中村 博貴、山本 亮、福永 健志、玉田 勉

【背景】近年、慢性関節炎に伴う慢性疼痛に対して本来抗生物質として使用されているイミペネム・シラスタチン (IPM/CS) を用いて動脈を塞栓することにより慢性難治性疼痛の除痛効果が得られるとの報告が散見される。しかし血管内動態、塞栓機序は不明とされている。

【目的】IPM/CS の一次塞栓物質としての生体内での血管内動態、塞栓効果、塞栓時間など塞栓機序を明確にする。

【方法】大型放射光施設 (Spring-8) により抽出される単色 X 線を用いてウサギの耳介動脈 (片側耳介には炎症誘発している) の微小血管を描出した。正常血管と炎症血管に対してそれぞれ耳介動脈本幹から IPM/CS 0.5g と非イオン性造影剤 (イオメロン 350) 5ml 混和したものを 1ml 投与し血管塞栓を行った。塞栓前、塞栓時、塞栓後 10 分毎に撮像 (60-90 分後まで) した。

【結果】ウサギの耳介動脈の IPM/CS における微小血管塞栓を観察できた。IPM/CS 投与後一時的に微小血管は塞栓されるが、正常血管に関しては 40 分程度での再開通を確認。炎症血管では 90 分まで観察したが再開通は認めなかった。血管塞栓される微小血管径も確認した。

【結語】IPM/CS の一次塞栓物質としての血管内動態を観察できた。IPM/CS は一次的に微小血管塞栓し、短時間で再開通を特徴とする。正常血管と炎症血管では再開通時間が異なった。塞栓機序の解明に寄与する可能性がある。

課題番号：R03 基-086

研究課題：筋生検のホルマリン固定パラフィン包埋検体における免疫組織化学的検討

研究代表者名 (所属)：西村 広健 (病理学)

共同研究者名：松野 岳志

【目的】筋病理診断では、通常の病理診断で用いるホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded: FFPE) 検体は役に立たず、凍結検体が用いられる特殊事情があるが、より扱いやすく精度管理の面でも優れた FFPE を用いた診断方法論が、筋病理診断でも有用ではないかと考え検討した。

【方法】筋炎の病理診断に重要な MHC class I (MHC) の発現について、診断当時に (++)、(+), (-) と判断し

た症例を抽出し FFPE で免疫染色を行った。凍結標本で用いる既知の抗体と、FFPE で有用とされる希釈済み抗体を用い、抗原賦活方法や反応時間を検討した。染色標本を観察し、細胞膜・細胞質における陽性所見の度合いをスコア化し評価した。

[結果] 1)凍結標本用の抗体では陽性所見は得られなかった。2)希釈済み抗体は賦活条件:pH 9・温浴槽 30 分, 1次抗体:4°C over night で筋線維の陽性所見が得られたが、本来の評価対象である細胞膜の陽性所見に乏しく、細胞質の陽性所見が主体であった。3)統計解析では、診断時の陽性強度と FFPE 切片での細胞質陽性所見に相関が得られた。

[考察] 本来みられるべき MHC の細胞膜陽性所見に乏しい点など、問題点が多いものの、凍結切片でしか検討できないとされてきた筋病理診断でも、FFPE を用いた免疫染色が役に立つ可能性を示せた。

— 消化器・代謝・腎 —

課題番号：R03 基-015

研究課題：肺線維化における生理活性リゾリン脂質分解酵素の役割

研究代表者名（所属）：岡本 安雄（薬理学）

共同研究者名：坪井 一人、竹之内 康広、北風 圭介、石丸 浩靖

「線維化肺では、スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) とリゾホスファチジン酸 (LPA) の分解酵素脂質リン酸ホスファターゼ 3 (LPP3) の発現低下が S1P と LPA の蓄積を引き起こし、線維化を促進する。」という作業仮説を検証するために、LPP3 ノックインマウスの作出を試みた。Rosa26 遺伝子座に CAG プロモーター制御下で、Cre 組換え酵素により loxP 配列に挟まれた発現阻止配列を除去すると LPP3 を過剰発現するように遺伝子操作した LPP3 ノックインマウスを作出した。導入する条件付き LPP3 発現フラグメントは、条件付き LPP3 発現ベクターと Cre 組み換え酵素を HEK 細胞に導入し、LPP3 タンパク発現と LPA 分解活性を確認した。作出された LPP3 ノックインマウスからマウス胎児線維芽細胞を単離し、Cre 組み換え酵素の導入による LPP3 タンパク発現を確認した。また、マクロファージにおけるインターロイキン (IL) -4/IL-13 による STAT6 の完全活性化に S1P₂ 型受容体 (S1P₂)/Rho/Rho キナーゼ経路が必要であることを明らかにした。これらの結果から、マクロファージにおける S1P₂/Rho/Rho キナーゼ経路を薬理的に阻害することにより、IL-4/IL-13 によって誘導される Th2 型免疫反応を減弱させ、肺線維化を抑制することができることを示唆している。

課題番号：R03 基-021

研究課題：機能性脂質の分解酵素に着目した肥満のメカニズム解明

研究代表者名（所属）：坪井 一人（薬理学）

共同研究者名：北風 圭介

N-アシルエタノールアミン (NAE) は長鎖脂肪酸とエタノールアミンが縮合した機能性脂質である。NAE は食欲抑制・脂肪分解などの作用を示し、肥満を抑制的に制御する。NAE の小腸における代謝機構には不明な点が多く、その解明は肥満のメカニズムの理解に貢献すると考えられる。我々は以前に、セラミド分解酵素である酸性セラミダーゼが NAE も分解することを、精製酵素と培養細胞を用いて示した。今回、本酵素の活性を促進するサポシン D (SAP-D) のノックアウトマウス (KO) を用いて、動物組織内における当該分解活性を検討した。SAP-D KO の脳、腎臓、肝臓における本酵素の mRNA 発現を qPCR 法により検討したところ、野生型マウスと比べて有意な差はみられなかった。そこで、これらの臓器のホモジネートを調製してセラミド加水分解活性を検討した。その結果、SAP-D KO では野生型マウスの 16-32% に低下していた。この低下は、SAP-D の酸性セラミダーゼ活性化能を反映していると考えられた。次に、同条件で NAE 水解活性を検討したところ、SAP-D KO では野生型マウスの 15-29% と低値であった。以上の結果から、酸性セラミダーゼはセラミドに加えて NAE の加水分解にも関わるということが、動物組織を用い

た検討により示唆された。従って、小腸においても酸性セラミダーゼの当該活性を考慮する必要があると考えられた。

課題番号：R03 基-016

研究課題：肺構成細胞特異的 p16 ノックアウトマウスを用いた肺線維化における老化細胞の役割の解明
研究代表者名（所属）：竹之内 康広（薬理学）

共同研究者名：岡本 安雄

様々な加齢関連疾患の発症や病態悪化において老化細胞の関与が強く示唆されている。これまでに我々は、ブレオマイシン誘発肺線維症モデルマウスの肺のマクロファージ (Mφ) と肺胞上皮細胞 (AEC) において、重要な老化誘導因子である p16 陽性の老化細胞を多く観察している。しかし、それぞれの細胞の老化が線維化に及ぼす影響は明らかになっていない。本研究では、肺構成細胞特異的に p16 発現を欠損したマウスを用いて、Mφ または AEC の老化が肺の線維化に関与するか否かを検討した。作出した Mφ あるいは AEC 特異的 p16 欠損マウスに 4 週間ブレオマイシンを腹腔内投与することにより肺線維症モデルを作製し、肺の摘出および気管支肺胞洗浄液 (BALF) の回収を行った。肺線維化の指標である BALF 中の細胞数・可溶性コラーゲン量およびタンパク量は Mφ 特異的に p16 を欠損させたマウスと対照群でほとんど差が見られなかった。一方、AEC 特異的 p16 欠損マウスにおけるや BALF 中の細胞数および可溶性コラーゲン量は対照群に比べ減少が見られた。また、マッソントリクロム染色により肺組織切片でのコラーゲン蓄積を検討したところ、AEC 特異的 p16 欠損は対照群に比べ減少が見られた。以上の結果から、ブレオマイシン反復腹腔内投与肺線維症モデルマウスにおいて、p16 発現を介した Mφ の細胞老化は肺の線維化への寄与は小さいが、AEC の細胞老化は肺の線維化を促進する可能性が考えられた。

課題番号：R03 基-017

研究課題：小胞体ストレス応答転写因子による膵β細胞の脱分化抑制機構の解明

研究代表者名（所属）：北風 圭介（薬理学）

共同研究者名：岡本 安雄

糖尿病状態では、高血糖や体内の炎症等により膵β細胞に様々なストレスがかかり、病態のさらなる悪化が引き起こされる。そのため、膵β細胞をストレスから保護する糖尿病治療法開発が求められている。ATF4 は細胞の恒常性維持機構である小胞体ストレス応答 (UPR) を制御する転写因子であるが、膵β細胞における役割には不明な点が多く残っている。そこで本研究では、糖尿病発症における膵β細胞と ATF4 機能との関連を解析した。まず、UPR を調節する化合物 Sefpin1 を小胞体ストレス依存性の糖尿病モデルである Akita マウスに 3 週間経口投与すると、膵島の ATF4 発現が増加し、糖代謝が改善した。次に膵β細胞特異的 *Atf4*-KO マウスと Akita マウスを交配した (Akita/βKO)。Akita/βKO はより早期から血糖コントロールが悪化し、寿命が顕著に短かった。また、Akita/βKO の膵β細胞は ALDH1A3 陽性の未成熟な状態に脱分化し、膵β細胞以外の内分泌細胞 (α、δ あるいは Ppy 細胞) に再分化することが示唆された。さらに、ATF4 下流因子として転写因子 ATOH8 を見出し、ATOH8 がこの再分化を抑制することが示唆された。以上の結果から、ATF4 による転写制御は膵β細胞の正常な機能を維持し糖尿病の発症を抑えるために必須であり、UPR の調節が糖尿病治療の標的として有望であることが明らかとなった。

課題番号：R03 基-045

研究課題：クラッペ病の新たな病態メカニズム「悪玉マクロファージ仮説」の提唱

研究代表者名（所属）：松田 純子（病態代謝学）

共同研究者名：渡邊 昂

【緒言】クラッペ病はリソソーム酵素であるガラクトシルセラミド (GalCer) β-ガラクトシダーゼ (GALC) の欠損による、遺伝性脱髄疾患である。その病態は、GalCer のリゾ体であるサイコシンが髓鞘

形成細胞に蓄積し細胞死を惹起するとする、「サイコシン仮説」によって永らく説明されてきた。我々は、GALC 欠損マウス (Twitcher マウス、Twi) と酸性セラミダーゼの活性化タンパク質であるサポシン D の欠損マウス (Sap-D KO) を交配して Sap-D 欠損 Twitcher マウス (Sap-D/Twi) を作製し、Sap-D/Twi がサイコシン蓄積を認めないにもかかわらず、Twi と同質の脱髄病変を呈することを見出した。これらの結果は、クラッペ病の病態には「サイコシン仮説」に代わるメカニズムが存在することを示唆する。本研究では、脱髄に伴う神経炎症に着目し、各遺伝子型マウス由来のマクロファージ機能を比較検討した。【方法】野生型、Sap-D KO、Twi、Sap-D/Twi の各遺伝子型マウスの骨髄を採取し、M-CSF でマクロファージに分化誘導したのち、LPS、Zymosan、サイコシン、GalCer を添加し、TNF- α の産生レベルを ELISA で検討した。【結果と考察】LPS および Zymosan の投与では遺伝子型間の差を認めなかった。GalCer 投与では Sap-D/Twi において有意な TNF- α の産生を認めた。サイコシンの投与ではいずれの遺伝子型においても TNF- α の産生を認めなかった。クラッペ病の病態には、髄鞘を貪食したマクロファージ内に蓄積した GalCer が、マクロファージを活性化し、神経炎症を惹起するというメカニズムが、大きく関わっている可能性がある。

課題番号：R03 ス-004

研究課題：フィトセラミド構造が維持する膀胱の機能と形態の解析

研究代表者名 (所属)：渡邊 昂 (病態代謝学)

共同研究者名：松田 純子、大平 伸

スフィンゴ糖脂質 (GSL) の疎水性尾部を構成するセラミド骨格は、長鎖塩基 (LCB) と脂肪酸から構成され、それぞれに炭素数、二重結合、水酸基の有無による多様性がある。多くの臓器では、炭素数 18 で $\Delta 4$ 位が不飽和化された LCB からなる「セラミド構造」が主要な構造であるが、小腸や腎臓には、炭素数 18 で C4 位が水酸化された LCB からなる「フィトセラミド構造」が豊富に存在する。フィトセラミド構造は、DES2 によって C4 位の炭素に水酸基が転移されることで合成される。本研究では、上皮細胞におけるセラミド骨格の構造多様性に着目し、マウスとヒトの膀胱組織における GSL のセラミド骨格構造多様性を検討した。薄層クロマトグラフィー解析により、主要な GSL は、マウスとヒトの両者において、HexCer、LacCer、Gb3、Gb4、GM3、および GD3 であった。LC-MS 分析により、マウスとヒトの両方で、HexCer、GM3、および GD3 には炭素数 20 で C4 位が水酸化された LCB からなるフィトセラミド構造が検出された。ヒト膀胱の上皮組織部分では、h24:0 を含む HexCer の 43%、GM3 の 35% が炭素数 20 のフィトセラミド構造であった。qPCR 解析により、膀胱には DES2 が小腸と同等レベルに発現し、炭素数 20 の LCB の生成に関与する SPTLC3 および SPTSSB の発現が分析組織の中で最も高く、いずれの発現も上皮下層に比べ、上皮層において優位であった。免疫組織染色により、DES2 は膀胱移行上皮細胞層に特異的に発現していた。今回見出した特異なセラミド構造は、膀胱移行上皮の膜機能において、重要な役割を担っている可能性がある。

課題番号：R03 ス-003

研究課題：ライソゾーム酵素の新規輸送経路の探索

研究代表者名 (所属)：森脇 隆仁 (分子遺伝医学)

共同研究者名：大友 孝信

本研究はライソゾーム酵素の新規輸送経路の探索のため、ライソゾーム酵素と相互作用するタンパク質を網羅的に同定し、新規輸送経路に必要なアダプタータンパク質の発見を目的とした。

我々はまずプルダウンに必要な Myc タグ融合ライソゾーム酵素の発現ベクターを作成した。これらのベクターをトランスフェクションすることでライソゾーム酵素が過剰発現することをウェスタンブロットにて確認した。また発現した Myc タグ融合ライソゾーム酵素は正常な基質分解能を持っていることを生化学実験により確認した。次に培養細胞に各発現ベクターをトランスフェクションし Myc タグ融合ライソゾーム酵素を過剰発現させ、抗 Myc タグ抗体を用いて免疫沈降を行った。その結果高感度 CBB 染色においていくつかのバンドがえられた。我々はそれらのバンドを切り出し、質量分析において同定を試

みた。検出されたタンパク質の中から、膜局在のタンパク質を抽出し、それらの中から機能をもとに、7つの候補となるタンパク質を見出した。それらのタンパク質のライソゾーム酵素の輸送における寄与を解析するため、shRNAでのノックダウンを行った。しかしながら、7種類の候補遺伝子いずれのノックダウン細胞においても酵素輸送の異常は観察されなかった。よって今回の検証ではライソゾーム酵素の輸送に関わる新規タンパク質は見いだせなかった。今後はプルダウンの条件の更なる改良などを行っていく。

課題番号：R03 基-095

研究課題：糸球体内皮-上皮細胞連関における sGC 活性化の意義の検討

研究代表者名（所属）：長洲 一（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：城所 研吾、柏原 直樹

背景：本邦における慢性腎臓病（CKD）患者は増加傾向にあり、死因の第8位を占め、重要な医療問題としてその解決が望まれる。早期のCKD発症には内皮機能障害が重要であることを報告してきたが、多くの基礎研究から糸球体上皮細胞障害が腎不全に至る糸球体硬化病変の形成に重要であることが判明している。このため糸球体内皮細胞から上皮細胞への障害機序伝搬・クロストーク機序（内皮-上皮連関）が想定される。「内皮機能障害によるeNOS-NO機能不全が糸球体上皮細胞のsGC活性化低下を介して、糸球体硬化病変形成を促進させる」との仮説を証明する。

方法：糸球体上皮細胞におけるsGC活性化の意義を検討する。eNOS-NO経路の破綻によって認められる現象が糸球体上皮細胞におけるsGC活性化の低下の影響を検討するため糸球体上皮細胞特異的sGC欠損マウス（podo-sGC-KO）を作成した。本マウスにストレプトゾトシン（STZ）糖尿病モデルを作成し組織変化及びGFRへ与える影響を検討した。

結果：糸球体病変の評価としてPAS染色を行った。podo-sGC^{f1/f1}-STZではメサンギウム基質の増加を認めた。糸球体上皮細胞のsGCタンパク発現を免疫染色で検討したところ糖尿病発症により有意な増加を認めていた。またpodo-sGC^{f1/f1}-STZではsGCタンパク発現は消失していた。また糸球体サイズを計測したところ糖尿病モデルマウスでは糸球体サイズの増大を認めるがpodo-sGC^{f1/f1}-STZでは変化を認めなかった。結語：糖尿病性腎臓病の糸球体上皮細胞におけるsGC活性化は糸球体病変の形成に抑制的な役割を担っている。今後、さらなる検討を行う。

課題番号：R03 基-091

研究課題：腎不全モデルマウスにおける腸管粘膜微小血流変化の解析とプロスタサイクリンの腸管血流改善効果を介した尿毒症症状改善作用の検討

研究代表者名（所属）：角谷 裕之（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：平野 憲、柏原 直樹

【背景】慢性腎臓病の主要原疾患は糖尿病、高血圧、加齢など多岐に渡るが、末期腎不全状態になると共通して食欲不振、嘔気、下痢などの尿毒症症状が出現してくる。これら一連の症状は体内への尿毒素の蓄積に伴い出現してくると考えられているが、どのような機序を介して蓄積するか十分な検討がなされていない。一方で、猫の腎不全治療薬である経口プロスタサイクリン（PGI₂）には腎機能低下を抑制し臨床症状を改善させる効果が示唆されているが、腎不全状態の腸管微小血管における影響を検討した報告はない。以上より、「腎不全腸管では内皮障害に起因する微小血流変化が生じており、PGI₂は、腎不全時の腸管血流を改善し、消化器症状を改善する」と仮説を立て検討した。

【方法】ICRマウスおよび腎不全モデルとしてICGNマウスを使用する。共焦点レーザー顕微鏡を使用して生体マウス腸管微小血管をin vivo imaging法にて可視化する。そして可視化された腸管微小血管の血流および血管拡張能を評価の上、PGI₂の影響を検討する。

【結果】まず、in vivo imagingにてPGI₂投与で腸管の血管径が拡張することを確認した。興味深いことにICGNマウスの腸管血流量は、ICRマウスと比較して有意に低下しており、腸管の血管透過性亢進、一酸化窒素/活性酸素の不均衡も生じていたが、PGI₂投与群で改善を認めた。

【結語】 PGI2 は腸管血流改善効果を介して腎不全状態の栄養状態を改善させる可能性が示唆された。

課題番号：R03 基-097

研究課題：糖尿病性腎臓病進展における糸球体内皮 Glycocalyx (Hyaluronan) 及び CD44 陽性 Leukocyte の役割解明

研究代表者名 (所属)：板野 精之 (腎臓・高血圧内科学)

共同研究者名：角谷 裕之、柏原 直樹

【背景】糖尿病性腎臓病 (DKD) は慢性腎臓病の主要な原疾患である。私共は、これまでに糖尿病、高血圧、加齢などに共通して随伴する内皮障害が糸球体障害の発症・進展に関与することを明らかにしてきた。特に腎糸球体内皮細胞表層に存在する Glycocalyx がアルブミン尿の出現に深く関与していた。Glycocalyx の構成因子であるヒアルロン酸は、白血球の表面マーカーである CD44 のリガンドであり、ヒアルロン酸-CD44 の相互作用は、炎症部位へのリンパ球の一次接着に関与する。DKD の糸球体病変に炎症細胞の影響が示唆されているが、詳細な機序は不明である。以上より「糸球体内皮 Glycocalyx の質的・量的異常は、CD44 陽性 leukocyte の糸球体内皮へのホーミングを介して腎局所に炎症を惹起し腎症が進展する」との仮説を立てて検討した。

【方法】野生型マウス (WT)、内皮障害モデルマウスとして eNOS 欠損マウス (eNOSKO) を使用した。2 型糖尿病モデルマウスである db/db マウスと eNOSKO マウスを交配し eNOSKO-db/db マウスを作成した。これらのマウスの循環血中の CD44 陽性 leukocyte 数を FACS で解析した。また、腎糸球体内における CD44 陽性 leukocyte のホーミング数を *in vivo* imaging 法で評価した。

【結果】糖尿病モデルマウスの循環血中の CD44 陽性 leukocyte 数は、WT マウスと比較して週齢を経るに従って増加した。また、eNOSKO-db/db マウスの糸球体内における CD44 陽性 leukocyte のホーミング数も増加していた。

【結語】DKD の糸球体障害に CD44 陽性 leukocyte による炎症惹起に関与している可能性がある。現在、その機序について詳細に検討中である。

課題番号：R03 基-094

研究課題：糸球体濾過率 (GFR) 制御機構における Keap1-Nrf2 活性の役割の解明

研究代表者名 (所属)：城所 研吾 (腎臓・高血圧内科学)

共同研究者名：角谷 裕之、柏原 直樹

背景：Keap1/Nrf2 経路は、抗酸化遺伝子発現の中心的な制御機構である。Nrf2 活性化薬は、糖尿病性腎臓病患者におけるイヌリンクリアランス法により測定された GFR を増加させた。Keap1/Nrf2 活性化に伴う GFR 制御機序の解明を目的とした。これまでに遺伝学的、薬理学的手法による Nrf2 活性化にて、マウスの GFR が上昇することを確認した。また *in vivo* imaging 法による糸球体循環動態変化より、Nrf2 活性化は糸球体濾過面積を増大させ GFR を増加させることが示唆された。糸球体細胞 (ポドサイト) の収縮に関わるカルシウム動態に着目し検討した。

方法：培養ポドサイトにカルシウム検出試薬 (Fluo4-AM, Fura red-AM) を導入し、アンジオテンシン II (AngII)、H₂O₂ 刺激による細胞内カルシウム濃度変化、また dh404 添加による変化を観察した。糸球体上皮細胞特異的にカルシウム感受性 GFP 蛋白 (GCaMP) を発現させたマウス (Podocin-GCaMP5/tdTomato マウス) の単離糸球体を用い、同様の刺激におけるカルシウム動態変化を観察した。Redox 感受性 TRPC5/6 の阻害薬を用い、ポドサイトへのカルシウム流入経路を確認した。

結果：AngII、H₂O₂ 刺激により培養ポドサイトおよび単離糸球体ポドサイトへのカルシウム流入が確認された。Nrf2 添加群、投薬群では同刺激によるカルシウム流入は抑制された。TRPC5/6 阻害薬により両刺激によるカルシウム流入が抑制された。

結語：Nrf2 活性化は、Redox 感受性 TRPC5/6 からのカルシウム流入を抑制することで細胞収縮を抑制し、糸球体濾過面積を増大させ GFR を増加させることが示唆された。

課題番号：R03 基-096

研究課題：eNOS-NO-sGC 活性化による wnt-catenin 経路制御に着目した尿細管保護効果の検討

研究代表者名（所属）：山内 佑（腎臓・高血圧内科学）

共同研究者名：長洲 一、柏原 直樹

背景：早期の CKD 発症には内皮機能障害が重要であることを報告してきた。一方、臓器線維化は臓器障害の不可逆的な進行機転である。その分子メカニズムとして、Wnt/ β -catenin 経路が重要な役割を果たすことが判明している。Wnt は Frizzled 受容体に結合することで β -catenin は glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) からのリン酸化から免れ、フリーの β -catenin が細胞質内から核内へ移行し、転写因子として分化、細胞増殖に関与する。先行研究から内皮機能障害 (eNOS/NO/sGC/PKG 経路の破綻) が Wnt/ β -catenin 経路活性化を促進させている可能性が示唆された。しかしながら、腎における両者のクロストークの分子実態は不明である。

【方法】COS 細胞を用い、PKG inducer と 8Br-cGMP で NO-PKG 経路を活性化し、 β -catenin のリン酸化、蛋白半減期の変化を検討した。また、eNOS 欠損マウス (eNOSKO)、野生型マウス (WT) に対し、 β -catenin のリン酸化を制御している GSK-3 β の阻害薬である塩化リチウム (Li) を飲水投与し、腎組織変化を検討した。また、NO シグナル増強のため、sGC 刺激薬 (Bay) を投与し、腎組織変化への影響を検討した。

【結果】NO-PKG 経路活性化により β -catenin のリン酸化は増加し、 β -catenin の分解が促進された。In vivo では、Li 投与により WT では変化を認めず、eNOSKO では β -catenin の蓄積が亢進し、線維化の増悪を認めた。この変化は Bay 投与により改善した。

【結語】NO-PKG 経路は β -catenin 経路を抑制的に制御し、その破綻は腎線維化を促進させた。sGC 刺激薬は β -catenin 経路抑制による腎線維化抑制効果が期待される。

課題番号：R03 基-025

研究課題：ミトコンドリア作動薬イメグリミンの膵 β 細胞・動脈硬化に及ぼす影響の検討

研究代表者名（所属）：金藤 秀明（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

共同研究者名：真田 淳平、伏見 佳朗、木村 友彦、下田 将司

イメグリミンはミトコンドリアに作動する新しい糖尿病治療薬で、糖尿病の実臨床の場および糖尿病の研究領域において非常に注目されている。本研究においてはイメグリミンの膵 β 細胞に対する効果を検討した。まず、イメグリミンを2型糖尿病モデルである db/db マウスに単回投与することによって、 β 細胞からのインスリン分泌が増加し、血糖値が低下した。さらに、健常マウスである db/m マウスからの単離膵島にイメグリミンを単回投与によっても、インスリン分泌が増加した。次に、db/db マウスを用いて、イメグリミンの慢性投与が β 細胞機能や血糖コントロールに対する効果を検討した。その結果、イメグリミンを4週間投与することによって、インスリン分泌が増加し、血糖コントロールは改善した。さらに電顕写真で検討したところ、2型糖尿病モデルである db/db マウスおよび KK-Ay マウスにおいて、イメグリミンはミトコンドリアの形態を改善させ、またインスリン顆粒数を増加させた。またイメグリミンは β 細胞のアポトーシスや炎症に関連する因子の発現を減少させ、実際に β 細胞のアポトーシスを抑制した。結論としてイメグリミンは、直接的なインスリン分泌の促進、インスリン顆粒数の増加、ミトコンドリアの形態の改善、 β 細胞のアポトーシスの抑制などを介して、血糖コントロールを改善することが明らかとなった

課題番号：R03 基-014

研究課題：2型糖尿病治療における効果的な運動指導を探索するための多面的検討

研究代表者名（所属）：中西 修平（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

共同研究者名：金藤 秀明、辰巳 文則

緒言：握力は筋肉量との相関が報告されており、また当教室では過去に糖尿病患者の内臓脂肪が安静時

間と関連することを報告していることから、握力や安静時間は2型糖尿病の運動指導に応用できる可能性がある。

目的：2型糖尿病患者の安静時間や握力は血糖管理や体格と関連するか横断的に検討する。

対象：当院の糖尿病外来を受診した2型糖尿病患者のうち、握力および腹囲・内臓脂肪を測定し、安静時間を問診し得た251名を対象とした。

方法：安静時間を対象者の中央値で2分し、握力は体重で調整し男女別に33および67パーセンタイルで3分し、高値(H群)、中間(M群)および低値(L群)に群分けした。安静時間の長短で握力各群とHbA1c、腹囲および内臓脂肪の関係を検討した。

結果：安静時間が長い群ではL群に比しM群とH群では有意に腹囲および内臓脂肪が低値であったが、短い群ではH群のみ有意に低値であった。HbA1cは安静時間が長いとL群に比しH群は有意に低値であったが、短いと3群間での差は認めなかった。

考察：安静時間が短い群では、長い群で認められたL群に対するM群の腹囲や内臓脂肪面積の有意な低値や、H群の有意なHbA1cの低値がキャンセルされていることから、たとえ握力が弱くとも安静時間を減らす取り組みにより、少ない筋肉量のある程度補える可能性がある。

結語：2型糖尿病患者の握力と安静時間の把握は糖尿病診療に有用である。

課題番号：R03基-019

研究課題：動脈硬化惹起性リポ蛋白代謝異常および肝障害に対する選択的PPAR α モジュレーター ペマフィブラートの有用性の検討

研究代表者名(所属)：下田 将司(糖尿病・代謝・内分泌内科学)

共同研究者名：片倉 幸乃、中西 修平、金藤 秀明

【背景】高トリグリセリド(TG)血症では、レムナントリポ蛋白の増加、small dense LDLの増加、HDLの低下が複合的に関与し動脈硬化を促進する。Selective PPAR α modulator(SPPARM α)であるペマフィブラートは、フィブラートと比較して有用性が高いと報告されている。

【目的】実臨床下において高TG血症患者を対象にペマフィブラートによる脂質プロファイルの変化を検討する。

【方法】川崎医科大学附属病院 糖尿病・代謝・内分泌内科外来を通院中で、フィブラート薬の服用歴がない高TG血症患者(糖尿病患者を含む)のうち、ペマフィブラート投与開始6ヶ月後までの経過を追跡し得た症例とした。一変量の分布は平均±標準偏差で表し、統計学的手法としてはpaired-t testを用いた。非正規分布を示した変数は、対数変換を行い検定した。

【結果】対象患者71例の投与開始前背景は、年齢 59 ± 13.0 歳、男性68%、HbA1c $7.0\pm 1.0\%$ 、総コレステロール(TC) 202 ± 38 mg/dL、TG 308 ± 236 mg/dL、HDL-コレステロール(HDL-C) 44 ± 11 mg/dL、LDL-コレステロール(LDL-C) 105 ± 22 mg/dL、non-HDL-C 158 ± 40 mg/dL、RLP-コレステロール(RLP-C) 11.3 ± 6.8 mg/dL、血清クレアチニン(Cre) 0.89 ± 0.26 mg/dL、 γ GTP 75 ± 107 U/L、ALT 39 ± 30 U/L、AST 34 ± 23 U/Lで、リポタンパク分画検査(PAGE)および各アポ蛋白検査を施行した37例において、アポB 99.9 ± 14.0 mg/dL、LDL-RM値 0.39 ± 0.04 、LDL-C/アポB比 1.05 ± 0.16 であった。6ヶ月時点でのペマフィブラート平均投与量は 0.18 ± 0.08 mgで、TG、non-HDL-C、RLP-C、VLDL(PAGE)、MIDBAND(PAGE)、アポB、アポEは有意に低下し、HDL-C、アポA-I、アポA-II、アポC-II/アポC-III比、LDL-C/アポB比は有意に増加した。一方で、TC、LDL-C、HbA1c、Creは変化しなかった。

【考察】ペマフィブラートはアポC-II/アポC-III比を増加させ、VLDLおよびレムナントの代謝を促進した。LDL/アポB比の増加はsmall dense LDLの減少を示唆した。また、アポAおよびHDLの増加が確認された。

【結語】ペマフィブラートは動脈硬化惹起性リポ蛋白の代謝異常の改善に寄与する。

課題番号：R03基-027

研究課題：ブドウ糖毒性が腓ラ氏島のm6A RNAメチレ化不全に与える影響

研究代表者名（所属）：木村 友彦（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

共同研究者名：真田 淳平、伏見 佳朗、岩本 侑一郎

【背景・目的】

2型糖尿病患者の膵ラ氏島では正常耐糖能者に比べ、m6A 関連 mRNA、蛋白の発現が低下しており、メチル化不全が起きている。膵β細胞特異的にメチル化不全を誘導すると、高血糖を呈しβ細胞重量が減少する。一方で血糖改善が RNA メチレーションに影響を与えるのかは不明である。本研究では2型糖尿病病態進展における m6A-RNA メチレーションの役割を解明する。

【方法】

糖尿病モデル db/db マウスにおいて、膵ラ氏島の m6A-RNA メチル化レベルの継時的な変化と、SGLT2 阻害薬による血糖改善が RNA メチレーションに与える影響を遺伝子発現、蛋白レベルで詳細に検討する。

【結果】

db/db マウスにおいて SGLT2 阻害薬の長期間投与群（7～18 週齢）では、コントロール群と比して空腹時血糖値、随時血糖値ともに大きく低下していた。一方で膵ラ氏島では、コントロール群と比して、m6A メチル化誘導酵素 Mettl14、Mettl13、m6A 結合蛋白 Ythdf2、脱メチル化酵素 Alkbh5 の mRNA 発現は、いずれも高く保たれていた。

【考察・今後の展望】

SGLT2 阻害薬により血糖を正常に保っていた群ではメチル化不全が誘導されていない事が示唆された。これは、2型糖尿病の病態進展にも RNA メチル化不全が寄与していることを示唆する結果である。今後、さらに膵島における m6A/A の LC-MS/MS による評価、膵島における各種 m6A 関連蛋白質の評価を行う。また、膵β細胞株（マウス）に対して、短鎖干渉 RNA によるメチル化不全を導入し、インスリン分泌、β細胞増殖に与える影響について詳細に評価する。

課題番号：R03 基-058

研究課題：Weekly GLP-1 受容体作動薬デュラグルチドとセマグルチドの実臨床における有効性と安全性の比較 Comparison of clinical efficacy and safety of weekly GLP-1 receptor agonists duraglutide and semaglutide

研究代表者名（所属）：片倉 幸乃（糖尿病・代謝・内分泌内科学）

共同研究者名：木村 友彦、辰巳 文則、下田 将司、中西 修平、宗 友厚、金藤 秀明

【背景】2型糖尿病治療において、GLP-1 受容体作動薬は血糖管理だけではなく、心腎保護作用や脂肪肝改善作用も報告されていることから、本邦においての使用頻度は徐々に増加している。中でも、Weekly 製剤であるデュラグルチドおよびセマグルチドは利便性が高く、今後さらに使用頻度は増えると考えられる。しかし、国内でこの2剤の有効性、安全性について前向きに直接比較した試験は無く、各薬剤がどのような症例でより有効性が高いのか、副作用について薬剤間に差異があるのかは明らかでない。

【目的】2型糖尿病症例を対象に、Weekly GLP-1 受容体作動薬であるデュラグルチドとセマグルチドの有効性と安全性を前向きに比較検討する。

【方法】対象は当該施設に外来通院している2型糖尿病患者のうち、主治医が新たに GLP-1 受容体作動薬による治療が必要と判断した症例とした。対象者を無作為にデュラグルチド群とセマグルチド群に割付け、6か月間観察した。

【結果】本研究は当教室主導の多施設共同前向き介入試験である。2022年5月20日現在、120例の登録を終了し、当院登録症例のうち38例は6か月間の観察期間を終えている。今後解析を進めていく予定である。

課題番号：R03 基-006

研究課題：過敏性腸症候群の病態と腸内微生物との関連に関する検討

研究代表者名（所属）：塩谷 昭子（消化器内科学）

共同研究者名：梅垣 英次、松本 啓志、半田 修、村尾 高久、大澤 元保

Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST-1) /CD157 は、GPI アンカー型細胞膜外酵素で NAD からサイクリック ADP リボースの産生と加水分解の反応を司る。GWAS により BST1 の SNP がパーキンソン病 (PD) の危険因子であることや、うつや不安神経症などの精神疾患との関連性も指摘されている。目的：BST-1 SNPs と過敏性腸症候群 (IBS) との関連性を検討した。対象と方法：対象は、健常者と下痢型 (IBS-D) および便秘型 (IBS-C) と診断された IBS 患者と健常対照者。BST-1 SNPs (rs4698412, rs11724635, rs2302465, rs12651314) はダイレクトシーケンス法により検討し、血清サイトカイン値を Milliplex MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel Immunoassay により測定した。結果：対象は、IBS-C 34 例 (男性 11 例)、IBS-D 36 例 (男性 18 例) 混合型 16 例 (男性 5 例) 健常者 41 例 (男性 19 例)。血清サイトカインの比較では、健常者と比較して IBS で有意に GM-CSF を含め IL1 β , IL6, IL8, TNF α などの炎症性サイトカインが高値であった。IBS のサブタイプ別の比較では IBS-C は GM-CSF が有意に低値 ($p=0.017$) あったが他のサイトカインに差を認めなかった。BST-1 SNPs の検討では、rs12651314 野生型が便秘型で 25.7% と有意に高率に認めたが、他の遺伝子 SNPs との関連性は認めなかった。IBS 患者のみのサブ解析において、rs12651314 野生型群では、変異型群と比較して、GM-CSF、EGF、IFN- α 2、IL-1ra、IL-1 β 、IL-6、IL-8、MIP-1a、MIP-1b、TNF α は有意に低値であった。結論：BST1 は、免疫調節により IBS の病態に関わっている可能性が示唆された。

課題番号：R03 基-056

研究課題：画像強調処理 LCI (Linked Color Imaging) を用いた腸上皮化生粘膜に対する組織学的鑑別に関する研究：胃癌発生高リスクの診断を目指して

研究代表者名 (所属)：梅垣 英次 (消化器内科学)

共同研究者名：塩谷 昭子、松本 啓志、半田 修、村尾 高久、大澤 元保、福嶋 真弥、半田 有紀子

H. pylori 除菌後に出現する地図状の発赤胃粘膜は、除菌治療に伴う胃内環境の変化や胃粘膜の修復によって顕在化する腸上皮化生粘膜であることが多いが、胃癌との鑑別が大変困難であり、除菌後胃癌のリスク因子であることが報告されている。この除菌後に発生する発赤胃粘膜の腸上皮化生に関する組織学的検討および内視鏡による色値の特性を検討した。その両者の関連性を解明することにより、早期の胃癌診断および癌発生リスクを予測することが可能になる。予防医学の観点からも、内視鏡観察による胃発がんのリスクを層別化することは極めて重要なことと考える。そこで、*H. pylori* 除菌治療後の胃粘膜に発生する領域性を有する発赤に対して以下の項目を検討した。

①消化管内視鏡健検査の通常白色光 (WLI) および特殊光 (LCI) で観察される色値、周囲粘膜との色差 ②発赤粘膜の生検材料より、組織構造 [組織炎症度 (updated Sydney system)、腸上皮化生の種類、免疫組織化学染色] の検討 ③内視鏡で得られる色値と組織構造の関連性

その結果、腸上皮化生の色値において、胃癌の既往のある患者とない患者、胃腸混合型腸上皮化生と腸型腸上皮化生において有意な差を認めた。また胃癌の既往のある患者では胃腸混合型腸上皮化生の占める割合が有意に高値であった。一般的に、胃腸混合型腸上皮化生は腸型腸上皮化生と比較して胃発がんのリスクが高く、この結果は胃がん高リスクを予測するマーカーに成りうる可能性が示唆された。今回の結果は途中解析結果で有り、現在さらに症例数を増やしている。

課題番号：R03 基-026

研究課題：筋肉-腸-腸内細菌叢相関を用いた大腸腫瘍発生予防法の開発

研究代表者名 (所属)：松本 啓志 (消化器内科学)

【目的】高脂肪食誘発肥満マウスにおけるアゾキシメタン誘発大腸腫瘍への運動の影響をマイオイン、腸内細菌叢の観点から検討する【方法】高脂肪食 (HFD) 誘発肥満マウスにおける糞便移植 (FMT) がアゾメキシメタン誘発大腸腫瘍に対して、ドナー糞便として普通食 (ND)、ND+運動 (ND+Ex)、HFD+Ex マウス便を投与した。【結果】FMT、特に ND+Ex 便を移植した群で有意にマウス大腸ポリープは抑制された (HFD 12.0,

HFD+FMT (ND) 5.0, HFD+FMT (ND+Ex) 4.0, HFD+FMT (HFD+Ex) 8.0)。FMT (ND+Ex) 群の糞便中のコハク酸、プロピオン酸は有意に減少、一方酢酸は有意に増加していた。また FMT (ND+Ex) 群は糞便中のミュリコール酸が有意に増加していた。【考察】FMT は大腸腫瘍抑制効果を認め、その抑制効果は腸管バイア機能増強に関連している可能性がある。現在、糞便および腸管粘膜関連細菌叢解析を行っている。

課題番号：R03 基-052

研究課題：日本人 Crohn 病患者における抗 TNF α 抗体製剤の Therapeutic Drug Monitoring の有用性検討
研究代表者名 (所属)：半田 修 (消化器内科学)

共同研究者名：塩谷 昭子、梅垣 英次、松本 啓志、村尾 高久、大澤 元保、福嶋 真弥、半田 有紀子

【背景・目的】ロイシンリッチ α 2 グリコプロテイン (LRG) は、炎症性腸疾患 (IBD) の疾患活動性に相関する血清バイオマーカーとして保険収載されたが、抗 TNF α 抗体製剤であるインフリキシマブ (IFX) 投与症例における血中 IFX トラフ濃度と LRG との関連は明らかではない。今回我々は Crohn 病 (CD) において LRG が、疾患活動性および IFX トラフ濃度とどの程度相関するのかを検討した。

【方法】2020 年 7 月から 2021 年 4 月の間に同意が得られた当院 CD 症例で、LRG と IFX トラフ濃度を測定し、患者背景やその他の疾患活動性マーカーとの相関を後ろ向きに調べた。

【結果】解析対象となった CD 症例は 26 人 (小腸大腸型 19、小腸型 4、大腸型 3) であった。病悩期間 5-462 ヶ月 (209.11 \pm 121.95 ヶ月)、手術回数 0-4 回 (1.14 \pm 1.13 回)、活動性は HBI 0-15 (3.55 \pm 3.69) と寛解期症例が中心であった。有意確率 $p < 0.05$ で LRG との相関がみられたのは IFX トラフ濃度 ($r = -0.343$)、手術回数 (0.307)、有意確率 $p < 0.01$ で相関が見られたものは CRP (0.533)、赤沈値 (0.615)、血清アルブミン (Alb: -0.431) であり、病型による差はみられなかった。

【結語】LRG 測定は IFX トラフ濃度、抗 IFX 抗体濃度測定の代替となり得る。

課題番号：R03 基-076

研究課題：好酸球性食道炎・胃腸炎の病態に関連する消化管細菌叢の検討

研究代表者名 (所属)：大澤 元保 (消化器内科学)

共同研究者名：松本 啓志、塩谷 昭子

【背景】好酸球性消化管傷害を主体とした、消化管アレルギーの患者に対して、当科が以前より行っている内視鏡下粘液ブラシ法を用いて腸管粘膜関連微生物叢 (mucosa-associated microbiota: MAM) の解析を行い、原因となる微生物叢と粘膜免疫機構、特に病態に関与するサイトカインを特定する。

【方法】上下部消化管内視鏡を施行時に、病変部 (食道、胃、十二指腸、回腸、大腸) 粘膜からブラシを用いた擦過法により消化管粘液を採取する。また上部検査前の場合は唾液、下部検査前の場合は糞便サンプルも採取する。腸内微生物の解析に関しては、腸管表面の粘液を DNA 抽出用緩衝液入りの容器に回収する。その後 DNA を抽出し、保存する。保存した DNA を外部施設 (京都府立医科大学 消化器内科学教室) に委託し、次世代シーケンサーを用いて 16SrRNA 遺伝子の解析を行い、現在細菌叢のプロファイルを同定する。

【結果】結果現在まで合計 46 名 (平均年齢 49.1 \pm 16.1 歳、男性 21 名、好酸球性食道炎 16 名、好酸球性胃腸炎 30 名) を登録した。現在、消化管粘液サンプルを共同研究施設に送付して、腸内細菌叢解析依頼を行っている。

課題番号：R03 基-066

研究課題：機能的 MR imaging による早期糖尿病性腎症の画像的評価

研究代表者名 (所属)：山本 亮 (放射線診断学)

共同研究者名：玉田 勉、檜垣 篤、木戸 歩、金藤 秀明、中西 修平、柏原 直樹、佐々木 環、長

洲 一、板野 精之

Objective: The purpose of this study was to identify the changes in multiparametric magnetic resonance imaging (MRI) findings in early diabetic nephropathy.

Materials and Methods: The study subjects (n=47) were divided into two groups: healthy group (healthy volunteers, n=13), early diabetic nephropathy group (stage1-2; n=34). Parameters with non-contrast 3T-MRI were measured with the follows; T2 values, BOLD, Optimal inversion TI (TI of maximum CMR) and inverted TI (TI that inverts the cortex and medulla SI) were calculated by SSFP with a special selective IR pulse with multi TI. Renal cortical thickness and renal length were also measured. Each of these values was compared two groups

Results: A significant difference between the two groups were seen in T2 value of cortex (98.55 ± 10.23 vs. 106.20 ± 10.63 ; $p=0.030$), T2* value of medulla (35.54 ± 5.21 vs. 39.01 ± 6.05 ; $p=0.037$) and, inverted TI and optimal TI of SSFP with a ssIR pulse (1219.23 ± 69.34 vs. 1283.82 ± 57.37 ; $p=0.005$), (1369.23 ± 80.46 vs. 1435.29 ± 66.89 ; $p=0.010$).

Conclusion: This study suggests the possibility that MRI using the values of T2 in cortex, inverted TI and optimal TI of SSFP with an ssIR pulse might sensitively capture edematous changes in the renal cortex in early stage of diabetic nephropathy and T2* in medulla, which can sensitively capture hypoxia in renal medulla, can be used to evaluate early diabetic nephropathy non-invasively and in a short period of time.

— 腫瘍 —

課題番号: R03 基-032

研究課題: Total Cell Kill 達成に向けた新たな白血病治療法の研究

研究代表者名 (所属): 岡本 秀一郎 (生化学)

【背景】

急性骨髄性白血病(AML)は、化学療法抵抗性による高い再発率が問題となっている。AML 細胞は、骨髄微小環境の血管内皮細胞からの分泌因子により抗がん剤耐性を獲得すると報告がある。近年、耐性化に血管内皮増殖因子 (VEGF) /VEGF 受容体 2 (VEGFR-2) シグナルの関与が指摘されているが、その実態は不明な点が多い。

【方法】

AML 細胞株と血管内皮細胞株を共培養し、抗がん剤耐性が誘導される骨髄内環境を *in vitro* で再現した。この共培養システムで VEGFR-2 阻害剤処理、または VEGFR-2 ノックアウト血管内皮細胞株を用いて、抗がん剤耐性化と VEGF/VEGFR-2 シグナルの関連を解析した。

【結果】

単独培養に比べて共培養した AML 細胞株は、抗がん剤によるアポトーシスが抑制された。興味深いことに、この効果は、VEGFR-2 阻害剤または VEGFR-2 ノックアウトによる VEGF/VEGFR-2 シグナルの遮断の影響を受けなかった。一方で、トランスウェルを用いて、AML 細胞株と血管内皮細胞の接着を阻害すると、抗がん剤に対する抵抗性は失われた。

【考察】

共培養システムで誘導される抗がん剤耐性には、VEGF/VEGFR-2 シグナルが直接的に関与していないようである。一方、耐性化がトランスウェルにより抑制されることから、血管内皮細胞と白血病細胞の細胞間接着が重要であることを示唆する。従って、VEGF/VEGFR-2 シグナルは、微小環境形成に必要な血管内皮細胞の遊走を介して、細胞間接着を促進して、間接的に耐性化誘導に関与していると考えられる。

課題番号: R03 基-028

研究課題：プロテオーム解析により見出した ALK 阻害薬耐性肺癌の新規分子標的

研究代表者名（所属）：瀧川 奈義夫（総合内科学 4）

共同研究者名：越智 宣昭、長崎 泰有、中西 秀和、山根 弘路

未知の微量蛋白を検出するプロテオーム解析を用いて、ALK 阻害薬耐性に関与する蛋白の同定は、私たちの知る限り報告はない。今回、ALK 阻害薬の代表的薬剤であるアレクチニブの耐性に関与する蛋白をプロテオーム解析で検出し、耐性克服の可能性について検討した。

親株（ABC-11）と耐性株（ABC-11/CHR2）の 2 次元ゲル電気泳動を施行したところ、約 2000 スポットにおいて発現量の差が認められた。そのうちピークが明らかに異なるもの 3 つを切り出し、MALDI-TOF 型質量分析システムにより解析した。Mascot（Matrix Science 社）検索システムの MS/MS Ion Search 法を用いてアミノ酸配列を同定し、耐性株に高発現しているスポット 1239、1840、2272 部位から 4 つのタンパク質を同定した。その中で、活性酸素（reactive oxygen species: ROS）の阻害酵素である superoxide dismutase 1（SOD1）に注目した。Western blot でも耐性株で SOD1 の高発現が確認された。ABC-11 と ABC-11/CHR2 で SOD1 阻害薬とアレクチニブの細胞増殖抑制試験として MTT assay を行ったところ、耐性株でのみ相乗効果を認めた。

ALK 阻害薬の耐性機序のひとつに SOD1 の高発現が想定され、SOD1 阻害薬による耐性克服の可能性が示唆された

課題番号：R03 基-037

研究課題：進行期軟部肉腫に対する適切な化学療法のシークエンスを確立するための基礎的研究

研究代表者名（所属）：山根 弘路（総合内科学 4）

共同研究者名：瀧川 奈義夫、中西 秀和、越智 宣昭、長崎 泰有

本年度は軟部肉腫細胞株に対するドキシソルビシン/トラベクテジン/エリブリンの効果について検討した。現在までに HT1080（Fibrosarcoma 由来 FUS-CHOP 陰性）細胞株および MLS 402-91（Type1 FUS-CHOP 陽性）細胞株を取得し、それぞれに対する殺細胞性抗がん剤の抗腫瘍効果を MTT アッセイで確認した。HT1080 細胞株および MLS 402-91 細胞株に対するドキシソルビシンの IC50 値はそれぞれ $0.31 \mu\text{mol/ml}$ 、 $0.17 \mu\text{mol/ml}$ であり、両者でほぼ同程度の抗腫瘍効果を示した。しかしながら、トラベクテジンの IC50 値はそれぞれ 50nmol/ml および 3.6nmol/ml であり、ドキシソルビシンと比較してトラベクテジンはより高い抗腫瘍効果を示す可能性が示唆された。また FUS-CHOP 陽性 MLS 402-91 細胞株では FUS-CHOP 陰性 HT1080 細胞株と比較し、トラベクテジンの抗腫瘍効果が特に高い傾向があり、既報のごとく、FUS-CHOP 融合遺伝子によるトラベクテジンの抗腫瘍効果の増強が示唆される結果であった。今後はさらに細胞株と薬剤を追加し、ドキシソルビシン、トラベクテジン、エリブリンの耐性株を作成し、薬剤シークエンス毎の IC50 の変化を割り出すことで、至適な薬物療法のための基礎的な背景を確立したいと考えている。

課題番号：R03 基-040

研究課題：殺細胞性抗がん薬による第 3 世代 EGFR-TKI 耐性誘導と克服に関する基礎的検討

研究代表者名（所属）：越智 宣昭（総合内科学 4）

共同研究者名：瀧川 奈義夫、山根 弘路、中西 秀和、長崎 泰有

EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌に対する第 3 世代 EGFR-TKI（Osimertinib）耐性機序は未だ解明が十分でない。我々は、EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌細胞株（H1975 細胞：L858R+T790M 変異）において Pemetrexed（PEM）耐性獲得後に未知の機序による Osimertinib 耐性を誘導されることを見出した。これまでの検討からその耐性機序として YES1 遺伝子の関与が示唆され、YES1 遺伝子の knockdown により、Osimertinib への感受性が回復し、さらに、YES1 阻害薬（Dasatinib、Saracatinib）と Osimertinib による相乗効果が示された。また、EGFR 遺伝子変異 status の異なる RPC9 細胞株（Ex19 欠失+T790M 変異）においても同様に PEM 耐性獲得による Osimertinib 耐性誘導を認め、先の H1975 細胞のみに認められるものではなく一定の普遍性を持った現象であることが確認された。RPC9/PEM 耐性株で

は Osimertinib と Saracatinib でより高い相乗効果を認めた。先の 2 剤 (Dasatinib、Saracatinib) と比較しさらに YES1 特異性の高い薬剤 (CH-XX) を用いてシグナルトランスダクションと併用効果について詳細に検討した。

課題番号：R03 基-078

研究課題：RNA sequence を用いた肺癌オルガノイドにおける融合遺伝子の同定と actionable 変異に対する抗腫瘍効果の誘導

研究代表者名 (所属)：山辻 知樹 (総合外科学)

共同研究者名：深澤 拓也、湯川 拓郎

近年、各臓器癌に由来するオルガノイドが樹立され、細胞株や遺伝子改変マウスに代わる新しい癌モデルとして、個別化医療や新規治療法の開発に用いられてきている。この中で申請者らは、肺癌切除組織からのオルガノイドの樹立を行い、肺癌オルガノイドのライブラリ化を進めている。また我々は、whole exome sequence にてドライバー遺伝子の検出には至らなかったオルガノイド に対し、RNA sequence を行うことで融合癌遺伝子：TPM3-ROS1 が検出でき、選択的チロシンキナーゼ阻害による抗腫瘍効果が誘導できた症例につき報告した (Yokota et al. NPJ Precision Oncology 5, 29. 2021)。

2014 年 Nakaoku らは、粘液産生肺腺癌 (invasive mucinous adenocarcinoma) において KRas 変異と相互排他的に CD74-NRG1、SLC3A2-NRG1、EZR-ERBB4、TRIM24-BRAF、KIAA1468-RET などの多種の融合遺伝子が多く発現することを報告した (Clin Cancer Res 20: 3087-3093. 2014)。現在この組織型を持つ肺癌から樹立したオルガノイド、さらに ALK 抗体陽性症例から樹立したオルガノイド等から RNA seq を行っており、解析結果を学術集会にて報告する。

課題番号：R03 基-077

研究課題：疾患モデルとしての肺癌オルガノイドにおける癌不均一性の解析

研究代表者名 (所属)：深澤 拓也 (総合外科学)

共同研究者名：山辻 知樹、湯川 拓郎

2011 年佐藤らは大腸癌オルガノイドが、患者癌の組織学的形態を反映しているばかりでなく、癌組織の複雑さ、癌の不均一性を忠実に再現していることを示し、癌研究における優れた疾患モデルであることを報告した (Sato T et al. Gastroenterology. 141: 1762-72. 2011)。

申請者らは、2018 年 11 月より肺癌切除組織からのオルガノイドの樹立を行い、現在ライブラリ化を進めている。肺癌オルガノイドが患者癌の不均一性をどのぐらい反映しているか、また樹立条件によりそれは異なるのかを解析するために、樹立オルガノイドに対し、動原体特異プローブを用いた FISH 法による核型解析を行なった。解析した肺癌オルガノイド (n=9) 全例で染色体数異常や構造変異が認められた。正常肺組織由来オルガノイドにおいては、上記変化は認められなかった。肺癌オルガノイドを構成する個々の細胞で染色体数が異なり、不均一な細胞集塊であることが分かった。一方で、樹立条件による染色体構造変異や大きな染色体数の違いは見られなかった。

課題番号：R03 基-011

研究課題：GI-PET を用いた早期肺癌の悪性度評価と縮小手術への応用

研究代表者名 (所属)：清水 克彦 (呼吸器外科学)

共同研究者名：中田 昌男、松谷 隆志、杉山 華衣

<背景> 近年肺癌に対する縮小手術が多く行われているが、症例の中には悪性度が高い腫瘍が混在しており、術式の選択には慎重な判断が必要である。

<目的> 術前の胸部 CT に加え PET/CT が病理学的悪性度の予測に有用であるかを検討した。従来から PET/CT の評価値として定着している SUVmax に加え SULpeak 値を新指標として採用した。

<症例と方法> 2011 年から 2016 年までに手術を行った非小細胞肺癌のうち、腫瘍径 3cm 以下でリンパ節

転移のない192例を対象とした。RAVAT（日本メジフィジックス社・研究支援用ツール）を用いてPET/CTのDICOMデータからSULpeak値を算出した。（使用ソフトをGI-PETからRAVATに変更した。）縮小手術適応群を、病理学的にN0+ly0+v0+p10である腫瘍と定義し、（以下Q0と呼称）Q0を予測可能な因子をROC曲線および多変量解析より決定した。

＜結果＞多変量解析にてQ0を予測できる因子はすりガラス陰影の有無とSULpeak/SUVmax値であった。次にPart-solid群とSolid群に分類した解析を施行した。Part-solid群ではQ0の予測因子はSUVmax/SULpeak値であり、ROC曲線のAUCは0.955/0.957であった。Solid群ではQ0の予測因子はSULpeak値のみであり、ROC曲線のAUCは0.630/0.660であった。Part-solid型肺癌ではSUVmax値4.30/SULpeak値2.35以下がQ0を予測できた。Solid型肺癌ではSUVmax値1.60/SULpeak値1.00以下がQ0を予測できたが、実際に適応となる症例は少数であった。

課題番号：R03基-043

研究課題：キメラ抗原受容体 chimeric antigen receptor (CAR) 遺伝子改変 T 細胞療法後の患者における CAR-T 細胞体内動態の解析

研究代表者名（所属）：近藤 英生（血液内科学）

共同研究者名：内田 圭一

本研究では、日常診療での CAR-T 細胞体内動態モニタリングを実現するために、リアルタイム PCR 法による CAR-T 細胞検出法を確立した。キムリア®の CAR 遺伝子は抗 CD19 抗体可変領域(クローン FMC63), 4-1BB, CD3ζより構成されており、正常細胞には存在しない FMC63 部分(72bp, Cancers. 2020;10:2820-) および 4-1BB~CD3zeta 部分(62bp, Mol Ther. 2010;18:843-) に対しプライマー、Taqman プローブを作成した。陽性コントロール人工遺伝子の希釈系列 (5 ~ 5×10⁶ コピー) に対し qPCR を行い、FMC63 部分のプライマー・プローブは slope -3.35 (効率 98.9%), R² 0.997 と良好、4-1BB 部分のプライマー・プローブは slope -3.11 (効率 109.8%), R² 0.994 とやや不正確であることを確認した。また、陽性コントロール人工遺伝子の希釈系列 (10⁴, 10³, 10², 10, 1, 0 コピー/uL) に対しデジタル PCR を行ったところ、FMC63 部分のプライマー・プローブでは、それぞれ 6233, 655, 69, 7.2, 0.45, 0 コピー/uL、4-1BB 部分のプライマー・プローブでは 7392, 785, 68, 6.2, 1.4, 0.34 コピー/uL であった。この成果により、CAR-T 細胞の体内維持が正確に把握できるため、日常診療における治療選択において貢献するものと考えられる。

課題番号：R03基-074

研究課題：がん関連線維芽細胞の悪性型サブセット同定に関する基礎的研究

研究代表者名（所属）：村田 卓也（産婦人科学2）

共同研究者名：本郷 淳司、下屋 浩一郎

【背景】CAFは、がんの進展に関与する。近年、CAFにはサブセットが存在し、がんの進展を促進するCAFサブセットや、逆にがんの進展を抑制するCAFサブセットが存在することが分かってきた。本研究はこれらのCAFサブセットを区別し、悪性型CAFサブセットを標的としたがん治療を確立することが目的であり、そのための基礎的な研究を行った。

【方法】①婦人科がんの臨床検体から線維芽細胞のコロニー分離培養を行い、細胞染色を行った。②子宮体がん培養細胞 HEC1B/GFP 株を共培養チャンバーの膜上、コラーゲンゲル層内もしくは層上で培養し、CAFとの共培養を行った。

【結果】①婦人科がんの手術検体10例において線維芽細胞の初代培養細胞クローンの樹立を試み、12クローンの分離培養に成功した。その内訳は、卵巣がん大網転移1症例の組織から4クローン、子宮体がん5症例から8クローンであった。同一患者の子宮体がんから樹立した線維芽細胞5クローンはCK陰性、VIM陽性、SMA陽性であった。②HEC1B/GFPはコラーゲンゲル上で培養することでCAFとの *in vitro* 共培養系が確立された。同一の患者由来子宮体がんCAF5クローンはHEC1B/GFPの増殖を促進した。

【考察】同一患者由来CAFを5クローン分離した。これらがCAFの悪性サブセットであるかどうかについてはさらなる解析が必要である。

課題番号：R03基-055

研究課題：癌性腹膜炎に対する新規治療法の開発

研究代表者名（所属）：永坂 岳司（臨床腫瘍学）

共同研究者名：谷岡 洋亮、岡脇 誠

癌性腹水中のCD4/CD8T細胞は、癌抗原に長期曝露されているため、末梢血中CD4/CD8T細胞よりも高頻度にPD1等のT細胞抑制レセプター（IRs）を発現しているだけでなく、より疲弊した状態（Exhausted）に移行していると考えられる。Exhausted stageのCD4/CD8T細胞は、IRsを抑制するImmune-checkpoint-blockade（ICB）に不応な状態となっており、ICBの奏功を期待することは出来ない。本研究は、腹水中に存在するT細胞を脱メチル化剤と共に培養を行い、Exhausted CD4/CD8T細胞を再活性化へと誘導することによる難治性癌性腹水患者への新規治療法の開発を行うと共にT細胞の活性化状態を予測可能とするmethylation pattern検出によるT cell staging技術の開発を試みる。現在までに、T cell staging検出技術の最適化を行った。IFN γ /TBX21/PD1/TCF7/CCR7 DMR methylation patternを最初のT cell staging biomarker候補に、重要DMR領域の検討を行ったところ、IFNを除くTBX21/PD1/TCF7/CCR7が最終候補となった。このDMR methylation patternをVOYAGE試験参加胃癌患者36名の治療前後の血液サンプルの白血球から得られたDNAを用いDMR methylation patternの検証を行ったところ、PD1/CCR7で明らかなメチル化の獲得、TCR7で脱メチル化を認めた。今後は、FACSによる白血球分画に対し、このDMR methylation patternの検証を行う。

課題番号：R03基-064

研究課題：「せん妄発症高リスク患者予測モデル」の構築

研究代表者名（所属）：岡脇 誠（臨床腫瘍学）

共同研究者名：永坂 岳司、谷岡 洋亮

臨死期でのせん妄発症は、例え早期診断しても、その対応中に臨終を迎えるため、発症後診断を行う方法では「時すでに遅し」となる場合が多く、患者と家族との最後の語らいの場も奪う。このため、せん妄発症高リスク群を選別可能な発症前診断技術が、人生最期のwell-being（幸福）のために必要である。本研究では、緩和ケア病棟入院患者を対象に、患者のせん妄と臨床的特徴との関連を明らかにするため入棟時及びせん妄発症時血液中PBCのpro-inflammatory cytokine genes（TNF-alpha, IL-6）promoter領域CpG sitesのメチル化の定量、血液中炎症性サイトカイン量、Fluorescence-Activated Cell Sorting（FACS）による血液中単核球分類比率を行い、CRP、電解質等の血液検査データや投与薬剤等の臨床情報と併せて遡及的分析を行うことにより、「せん妄」を発症前の段階で予測する「せん妄発症予測式」の構築を試みる。

登録症例は34例、年齢平均値は、せん妄発症群女性72.7歳、男性71.9歳、未発症群女性75.9歳、男性74.4歳。MSTはせん妄発症群37日・未発症群46日で、予後に優位な差は認められなかった。今後はDeep learningによる解析を行い検証する。

課題番号：R03基-054

研究課題：免疫チェックポイント阻害剤による胃癌薬物療法に対する新規バイオマーカーの開発

研究代表者名（所属）：谷岡 洋亮（臨床腫瘍学）

共同研究者名：永坂 岳司、岡脇 誠、堅田 洋佑

切除不能進行再発胃癌（mGC）の化学療法では免疫チェックポイント阻害剤（ICI）であるニボルマブは標準治療の一つに位置づけられている。近年、胃癌におけるICIのバイオマーカーとしてはtumor infiltrating lymphocyteの免疫担当細胞の割合やPD1の発現などに注目がされているが、ICI投与前

の組織採取は必ずしも容易ではない。ICI による抗腫瘍効果は T 細胞に依存しており、T 細胞は抗原曝露により Naïve → Effector → Exhausted という 3 つの stage を経ることが知られている (T cell stage)。PD1 は抗原曝露された瞬間から発現し、Effector stage では ICI による PD1 block は奏功するが、Exhausted stage では、ICI 不応となると考えられる。本研究では、mGC 患者の ICI 投与前血液を対象に、この T cell staging による ICI predictive biomarker の構築を試みる。2022 年 5 月の時点で胃癌薬物療法を施行した切除進行再発胃癌患者 22 名の治療前後の血液サンプルの FACS によるリンパ球分画の解析および CD3+CD8+PD1+/CD3+CD8+PD1-/CD3+CD4+ PD1+/CD3+CD4+PD1- のリンパ球の分離を行った。そのうち 12 例が、ICI 投与前後のリンパ球分画の検討が可能であった。12 例の ICI メインターゲットである CD8 陽性 T 細胞中の PD1 陽性細胞の割合は投与前が 30% であり、投与後は 17% と減少していた。このことは ICI 投与が末梢血中の Cytotoxic T lymphocyte に何らかの影響を与えていることが考えられる。ICI 投与前に分離されたリンパ球を用い、IFN γ /TBX21/PD1/TCF7/CCR7 DMR methylation pattern による T cell staging を行い、抗腫瘍効果との関連の検証を行う。

課題番号：R03 基-020

研究課題：MRI-経直腸超音波融合画像ガイド下前立腺標的生検を用いた前立腺癌の診断法の最適化：超高 b 値拡散強調像の有用性

研究代表者名 (所属)：玉田 勉 (放射線診断学)

共同研究者名：木戸 歩、宮地 禎幸、山本 亮

目的：前立腺 MRI の拡散強調像 (diffusion-weighted imaging : DWI) において、従来法である b 値 2000 s/mm² を用いた high b-value DWI (hDWI) は良性部と悪性部の不十分なコントラストと前立腺癌の悪性度 (Gleason grades (GG)) を識別するために用いられている DWI から算出される病変部の apparent diffusion coefficient (lesion ADC : lADC) の GG 間の重なりが問題となっている。そこで本研究の目的は、b 値 3000 s/mm² を用いた ultra-high b-value DWI (uhDWI) と従来法の hDWI の画質、前立腺癌の腫瘍検出能と悪性度の識別能を比較する事である。

方法：3T 装置で撮像された multiparametric MRI (T2 強調像、DWI、ダイナミック造影) を受けた 49 名の前立腺癌症例を対照とした。Single-shot echo-planar DWI は b 値を 0、2000 と 3000 s/mm² と設定して撮像した。Anatomical distortion of prostate (AD)、signal intensity of benign prostate (PSI)、および lesion conspicuity score (LCS) を 4-point scale を用いて評価した。加えて Signal-to-noise ratio (SNR)、contrast-to-noise ratio (CNR)、および DWI から算出される lADC と良性部の ADC (benign ADC : bADC) を算出した

結果：uhDWI における PSI は hDWI のそれより有意に低かった ($p < 0.001$)。AD、LCS、SNR および CNR は uhDWI と hDWI の間で同等であった (すべて $p > 0.05$)。一方、uhDWI と hDWI の両者において lADC は bADC に比して有意に低かった (いずれも $p < 0.001$)。GG2 以下の前立腺癌と GG3 以上の前立腺癌の間の lADC の比較において、uhDWI と hDWI の両者で有意な差が認められた (各々 $p = 0.007$ と $p = 0.021$)。GG2 以下の前立腺癌と GG3 以上の前立腺癌を識別するための lADC の診断能において、ROC 解析から得られた area under the curve (AUC) は hDWI において 0.731、uhDWI において 0.699 であり、両者に有意な差はなかった ($p = 0.161$)。

結論：uhDWI は hDWI に比して高信号を示す前立腺癌の検出能の向上に効果的である前立腺の背景信号を抑制することができるものの、前立腺癌の診断能の向上に寄与しなかった。

課題番号：R03 基-099

研究課題：前立腺 MRI における 3 つの異なる撮像法を用いた拡散強調像 (ssh-EPI DWI、ssh-EPI DWI using C-SENSE、IRIS) の臨床的実現可能性にむけての比較検討

研究代表者名 (所属)：木戸 歩 (放射線診断学)

共同研究者名：玉田 勉、山本 亮、宮地 禎幸、森谷 卓也

目的：ssh-EPI DWI、EPICS、msh-EPI DWI を同じ撮像時間で比較し、前立腺 MRI における IRIS と EPICS

の臨床的実現可能性について評価する。

対象：生検前に前立腺 MRI が撮像され、前立腺癌と診断された 19 例。

方法：画質評価として各撮像法における解剖学的な歪み (AD) や、病変の目立ち度 (LCS)、前立腺被膜の明瞭性 (PEC) について 4 段階評価を行い比較。定量的な指標として SNR や CNR を計算し、比較。良悪の識別能を病変および非病変部の平均 ADC 値を用いて比較。

結果：3 群間比較では AD や PEC に有意差 ($P < 0.005$) を認めた。2 群間比較では IRIS における AD が ssh-EPI DWI と比較して有意に低減 ($P = 0.011$)。また、IRIS における PEC は ssh-EPI DWI や EPICS と比較し有意に改善 ($P < 0.001$, $P < 0.001$)。ssh-EPI DWI における SNR と CNR は、EPICS や IRIS よりも有意に高い値を示した ($P = 0.010 \sim < 0.001$, $P = 0.018 \sim 0.001$)。良悪の識別能は各撮像法とも非病変部と比較し病変部の平均 ADC 値が有意に低い値を示した ($P < 0.001$)。

結論：ssh-EPI DWI は、他の撮像法と同等の腫瘍検出能を有するが、IRIS は ssh-EPI DWI および EPICS と比較して、画像の歪みやブラーリングを低減する。

課題番号：R03 基-065

研究課題：胃 MALT リンパ腫における放射線治療後の有害事象の検討とリアルタイムイメージングの開発

研究代表者名 (所属)：釋舎 竜司 (放射線腫瘍学)

共同研究者名：勝井 邦彰、余田 栄作、渡邊 謙太、河田 裕二郎、清水 里紗、松本 啓志

【目的】胃 MALT リンパ腫に対する放射線治療後の肝および腎機能障害の有無と、照射線量、照射体積との関連を検討した。【対象と方法】2010-2018 年に治療を受け、腎疾患の既往のない I 期の 14 例を後方視的に検討した。AST、ALT 値は CTCAE version 5.0 を用い、eGFR 値は Kidney Disease Improving Global Outcomes の Chronic Kidney Disease (CKD) 分類を用いた。全肝・両腎の平均線量や照射体積 (V5-30) を分類別に比較、検討した。【結果】年齢中央値は 54 歳 (39-77 歳)、13 例が 3D-CRT、1 例が IMRT であった。線量は、13 例が 30-30.4Gy/15-20 回、1 例が 41.4Gy/23 回であった。観察期間中央値は 4 年 4 ヶ月 (1-11 年)。局所再発例はなし。治療後 1 ヶ月以内に Grade 1 の AST/ALT 値上昇を 10/11 例に認めた。AST/ALT=Grade2/3 を認めた 1 例を詳細に検討し、全肝平均線量は耐容線量以下であったが、V5 が 92.4% と低線量域が広範であった。また、CKD 分類で Grade1/2/3a が 2/8/4 例あり、軽度から中等度低下を示した 4 例を詳細に検討。両腎の耐容線量を超えず、低線量域も他と比べて広範ではなかったが、年齢中央値が 62 歳と高かった。【考察】治療終了 1 ヶ月以内に肝機能障害を示す症例が多く、耐容線量を超えなくとも低線量域に注意する必要があると思われた。また、腎機能維持のためには線量制約だけでなく、治療開始時の年齢も加味する必要があると思われた。

課題番号：R03 基-053

研究課題：骨髄増殖性腫瘍および骨髄異形成症候群の遺伝子解析と新規分子標的治療の開発

研究代表者名 (所属)：北中 明 (検査診断学 (病態解析))

共同研究者名：通山 薫、辻岡 貴之、末盛 晋一郎

骨髄増殖性腫瘍 (MPN) および骨髄異形成症候群 (MDS) の病態解明を目的として、臨床検体の遺伝子解析と新規治療標的分子の探索を継続している。

令和 3 年度は臨床検体を用いた検討として、47 例の MPN (および疑い症例) に対して遺伝子解析を行った。8 例に *JAK2V617F* 変異、2 例に *CALR* 変異、1 例に *MPL* 変異が認められた (36 例は解析中)。MDS については、日常診療で作成された標本を用いた遺伝子解析を可能とするための検討を行ない、封入済みギムザ染色標本を用いた *SF3B1* 変異の解析が可能となっている。

基礎研究として、変異 *CALR* が *MPL* シグナルを活性化する機序について、*CALR* 変異導入 F-36P-MPL 細胞、ならびに 293T 細胞による一過性発現系を使用して、細胞内情報伝達機構における重要分子の同定を試みた。各種阻害剤を用いたスクリーニングより、Src ファミリーチロシンキナーゼの阻害が、変異 *CALR* 依存性細胞増殖を抑制することが明らかとなった。Src 選択的阻害剤 PP2、Bcr-Ab1/Src 阻害薬ボ

スチニブは、ともに *CALR* 変異導入 F-36P-MPL 細胞の増殖を抑制し、*CALR* 変異によって亢進した STAT5 の転写活性を低下させた。このうちボスチニブは慢性骨髄性白血病の治療薬として臨床使用されており、ヒト体内で到達可能な血中濃度において前述の細胞増殖抑制作用を発揮した。

課題番号：R03 基-030

研究課題：骨髄異形成症候群細胞株を用いた造血幹細胞モデルの確立

研究代表者名（所属）：辻岡 貴之（検査診断学（病態解析））

共同研究者名：通山 薫、北中 明、末盛 晋一郎

緒言：近年、造血器腫瘍を含む悪性腫瘍は表現形質や機能的に多様性を有する細胞集団により構成されることが明らかになってきた。ごく一部の幹細胞が自己複製を行いながら腫瘍組織を供給する階層モデルが提唱されている。今回、我々は骨髄異形成症候群（MDS）細胞株から MDS 幹細胞（CD34+, CD38-）の抽出を試みた。

材料と方法：MDS92 と MDS92 の芽球化細胞株である MDS-L を用いた。

CD34、CD38 MicroBead Kit、Dead Cell Removal Kit（Miltenyi Biotec 社）を用いて MACS Column-based cell separation を行った。CD34+、38-細胞のコロニー形成能を観察するために、半固形メチルセルロース培地 MethoCult™（STEMCELL Technologies 社）を用いた。

結果：形態的に MDS92 は芽球を 5-10%有し、残りは骨髄前駆細胞から成熟好中球様細胞で構成されている。元々の細胞集団（ 7.5×10^5 個）から CD34+、38-細胞を採取（ 8.5×10^4 個：約 11%）した。更にその 1%弱の細胞でコロニーが形成された。

考察：MACS で採取した CD34+、38-細胞の割合はフローサイトメトリーの結果とほぼ一致していた。今後は MDS 幹細胞に対する抗腫瘍薬感受性についても検討していきたい。

課題番号：R03 基-010

研究課題：トリプルネガティブ乳がんの腫瘍免疫に関する臨床病理学的検討

研究代表者名（所属）：森谷 卓也（病理学）

共同研究者名：紅林 淳一、西村 広健、三上 友香、佐貫 史明

手術不能または再発のトリプルネガティブ（TN）乳癌に対し免疫チェックポイント阻害剤（ICI）として抗 PD-L1 抗体が用いられている。今回、TN 乳癌 109 例に対し Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO-1), B7-H4, PD-L1 (SP142), CD8, FOXP3 に対する免疫組織化学を行い各マーカーの発現と関連性を検討した。B7-H4 と IDO-1 間の H-SCORE の相関は $\rho = -0.0696$, P 値=0.492 と負の相関係数を示した。B7-H4 と PD-L1 の相関は $\rho = 0.0932$, P 値=0.175、IDO-1 と PD-L1 では $\rho = 0.0914$, P 値=0.373 と相関係数は正であった。腫瘍辺縁部に CD8 陽性リンパ球が多い群では B7-H4 がより強く発現していた (P 値=0.0297)。Ki67 標識率と B7-H4 は正の相関 ($\rho = 0.0011$, P 値=0.352) を示し、組織学的 Grade が高い群で B7-H4 をより強く発現していた (P 値=0.00705)。IDO-1 と腫瘍浸潤リンパ球 (%) は正の相関を示した ($\rho = 0.0322$, P 値=0.211)。B7-H4 と IDO-1 間には有意な相関は得られなかったが、一方の蛋白が陽性の場合、もう一方が陰性となりうる傾向が示唆された。CD8 陽性リンパ球を含む免疫微小環境は免疫チェックポイント分子の発現状況に関与することが示唆された。

課題番号：R03 基-035

研究課題：RNA 編集を起点とした食道がん特異的遺伝子発現ネットワーク異常の解明

研究代表者名（所属）：増田 清士（学長付）

A-to-I RNA 編集は高等生物で生物種を越えて保存された普遍的な機構で、全転写産物の約 2/3 に生じることが同定され、免疫疾患や癌などの様々な疾患の病態形成に関与することが明らかとなってきた。しかしほとんどが遺伝子領域の非翻訳部位に生じるため、生理的意義の解明が進んでいない。今回、RNA 編集酵素 ADAR1 が癌細胞特異的に癌制御因子の mRNA 非翻訳領域に A-to-I RNA 編集を起こし、RBP など

との集合体形成異常を介して転写後調節機能異常を生じさせ、これらの標的分子が関連する細胞内パスウェイの異常を誘導することで癌化に関与するという仮説のもと研究を行った。

ADAR1 ノックダウン細胞またはコントロール細胞から、TIA1 特異抗体を用いた免疫沈降法で RNA を回収し、マイクロアレイで ADAR1 量によって影響を受ける結合 mRNA を網羅的に同定した。pathway 解析を行った結果、ADAR1 ノックダウン細胞では NF κ B 経路や JAK STAT signaling に関与する遺伝子群と TIA1 の結合が抑制され、Cell Cycle、Apoptosis に関与する遺伝子群との結合が促進された。さらに ADAR1 ノックダウン細胞では *IL6* mRNA と TIA1 の結合が抑制されて *IL6* mRNA 量が増加すること、*CCNA1* mRNA と TIA1 との結合が亢進し *CCNA1* mRNA 量が減少することが明らかとなった。

以上の結果から、ADAR1 はこれらの mRNA 3' UTR に A-to-I RNA 編集を行い、TIA1 との結合を調節することで、mRNA 量を制御している可能性が示唆された。

課題番号：R03 基-079

研究課題：肺腺癌における ROS1 融合遺伝子に対する薬剤耐性機序の解明

研究代表者名（所属）：羽井佐 実（学長付）

共同研究者名：深澤 拓也、高岡 宗徳、石田 尚正

非小細胞肺癌に対して保険適用のある分子標的薬があるドライバー遺伝子は、現在 8 種あり、それぞれへのコンパニオン診断後、分子標的治療が行われる。ROS1 融合遺伝子は、非小細胞肺癌の 1-2%に見られる希なドライバー遺伝子であり、現在切除不能、進行非小細胞肺癌に対しチロシンキナーゼ阻害薬阻害剤の投与が現在推奨されている。

TPM3-ROS1 融合遺伝子をドライバーに持つ肺癌オルガノイド PDT-LUAD#19 に対し、2 種の分子標的薬：クリゾチニブおよびエヌトレクチニブを用い、これらに対する耐性株を作製後、その機序の解析を試みた。培養液内に当該標的薬を添加し、濃度を漸増することで、それぞれに耐性を示す、PDT-LUAD#19R1 および PDT-LUAD#19R2 を樹立した。ROS1 融合遺伝子を持つ肺癌におけるクリゾチニブ耐性機序として、*ROS1* D2033N、D2033N、G2032R、L2026M、L2155S がそしてエヌトレクチニブ耐性機序として *ROS1* G2032R、D2033N、L2026M が報告されている。PDT-LUAD#19R1 および PDT-LUAD#19R2 より抽出した RNA からの逆転写産物への Sanger sequence を施行した結果、それぞれの株において上記変異、さらに未報告の変異は検出されなかった。耐性獲得には他の機序が関与すると考えられ、現在さらに解析を進めている。

— 環境と生体反応 —

課題番号：R03 基-075

研究課題：オオサンショウウオのゲノム解析

研究代表者名（所属）：西松 伸一郎（自然科学）

共同研究者名：守山 禎之、小島 史也、大澤 裕

オオサンショウウオ (*Andrias japonicus*) は、世界最大の両生類で、本邦では特別天然記念物に指定された希少野生動物である。近年、中国より輸入されたチュウゴクオオサンショウウオと在来種との交配による交雑種が発見され問題となっているが、交雑種も種の保存法やワシントン条約により絶滅のおそれのある希少野生動物種として保護されている。在来種の遺伝的多様性を確認した上で、オオサンショウウオの遺伝的保全を考えていく必要がある。本研究は、これまでに岡山県内と山口県内の河川で捕獲されたオオサンショウウオのゲノム DNA を用いて、マイクロサテライトを解析し、遺伝的多様性を明らかにすることを目的とした。

オオサンショウウオの核ゲノム中に存在する 8 ヶ所のマイクロサテライトについて、岡山県内と山口県内で捕獲された計 109 個体の個体を比較した結果、岡山県内の吉井川、旭川、高梁川に生息する個体群ごとにそれぞれ特徴的な遺伝子型が存在することが判明した。また、山口県内で捕獲された個体は高

梁川流域に生息する個体群と遺伝的な関係が深いことが判明した。京都大学の松井らの解析で、本邦のオオサンショウウオは地理的に伊勢湾水系と近畿以西の2系統に分類されることが明らかとされているが、近畿以西の集団が、さらに旭川以東と高梁川以西の2系統に分類される可能性が示唆された。

課題番号：R03 基-062

研究課題：慢性肉芽症遺伝子 gp91^{phox} のタンパク質構造解析

研究代表者名（所属）：栗林 太（生化学）

好中球は、貪食した病原体に対して殺菌剤である活性酸素を多量に生成し殺菌する。この活性酸素の生成源が gp91^{phox} である。gp91^{phox} の重要性は、その遺伝的欠損症が幼少期より重篤な感染症を繰り返す慢性肉芽腫症（CGD: chronic granulomatous disease）を引き起こすことによって示される。また、gp91^{phox} は、血管内皮細胞の酸化ストレスに寄与していることが知られている。CGD の確定診断や血管内皮細胞の活性酸素生成量の推定は、gp91^{phox} のタンパク質発現量の評価により行われる。本研究で、抗 gp91^{phox} モノクローナル抗体 mAb-CL-5 と mAb-48 が認識するヒト gp91^{phox} のエピトープが、それぞれアミノ酸 132-147 および 136-144 に存在することを示した。また、これらのエピトープは gp91^{phox} 細胞外ループに位置し、近傍に N 型糖鎖修飾のサイトが存在するが、結合糖鎖の有無は、抗体の認識に影響を与えなかった。さらに、両エピトープ内のアミノ酸を置換した gp91^{phox} は、酵素活性に影響を与えることなく、mAb-CL-5 と mAb-48 により認識されなかった。従って、これらのモノクローナル抗体は、エピトープ内のアミノ酸置換が生じていない gp91^{phox} のタンパク質発現量を調べるのに有用である。

課題番号：R03 基-031

研究課題：慢性肉芽腫症の新規治療戦略シーズ創生

研究代表者名（所属）：宮野 佳（生化学）

共同研究者名：岡本 秀一郎

重篤な感染症を繰り返す慢性肉芽腫症（CGD, chronic granulomatous disease）は、遺伝性疾患で、殺菌剤である活性酸素を生成する NOX2 酵素複合体の機能不全による。CGD 症例の 6% は、NOX2 構成タンパク質因子 P22PHOX（CYBA 遺伝子）の常染色体劣性遺伝である。私は、CYBA-CGD 症例では、アミノ酸置換が生じた P22PHOX 変異タンパク質が不安定なため分解され、NOX2 活性を失うと想定している。私は、血管内皮種細胞において P22PHOX の意図的な分解により酸化ストレス誘導性 MCP-1（腫瘍マクロファージ走化性因子）の分泌が減少し、腫瘍の悪性を抑制することを見出した。これは、P22PHOX が生理的条件下で分解され、それに伴い NOX 活性が低下することを示唆する。さらに、P22PHOX-CGD 変異タンパク質の分解が小胞体関連分解機構を介していることを見出した。これは、小胞体関連分解の阻害により P22PHOX-CGD 変異タンパク質の分解をエスケープさせれば、NOX2 活性のレスキューが可能になることを示唆し、CGD の新規治療戦略のシーズとして期待できる。

課題番号：R03 基-044

研究課題：HTLV-1 感染による免疫細胞老化と慢性炎症・発がんに関する包括的研究

研究代表者名（所属）：齊藤 峰輝（微生物学）

共同研究者名：内藤 忠相

【目的】長い潜伏期を経て主に高齢者に難治性白血病（ATL）または慢性炎症性疾患（HAM）を発症させる HTLV-1 の転写制御因子 Tax 及び HBZ の標的遺伝子に着目し、発現変動と病態との関連を明らかにする。

【方法】複数の発がん関連 lncRNA と老化制御遺伝子 Menin, Bach2 について、HTLV-1 感染 T 細胞株、非感染 T 細胞株、末梢血単核球（PBMC）における発現と病態との関連を qRT-PCR 法で解析した。HTLV-1 感染 T 細胞株と非感染 T 細胞株を用いて、siRNA による Menin 発現抑制及び Menin 阻害剤による機能抑制が細胞増殖能に与える影響を解析した。

【結果・考察】lncRNA 及び Menin, Bach2 の発現はいずれも HTLV-1 感染 T 細胞株と HTLV-1 関連疾患（ATL,

HAM)患者及び無症候性キャリアーのPBMCで有意に低下していた。Menin阻害剤による細胞増殖抑制は、MeninノックダウンによりBach2の発現が抑制されたHTLV-1感染T細胞株でのみ認められた。

【考察】発がんや老化制御に係るHTLV-1標的遺伝子の発現変動が、HTLV-1の感染標的であるCD4陽性T細胞の疲弊・老化を持続・加速させ、ATLやHAMの発症につながる可能性がある。これら遺伝子の発現変動をモニターすることで早期に病態の変化を把握することができれば、新規バイオマーカーの候補となりうる。

課題番号：R03基-023

研究課題：ウイルス行動解析によるトリインフルエンザウイルスのヒトへの感染性の評価

研究代表者名(所属)：堺立也(微生物学)

共同研究者名：齊藤 峰輝

インフルエンザウイルスは、結合する受容体を交換することで細胞表面に沿って運動することができる。感染に最適な運動様式(行動パターン)は宿主により異なることから、ウイルスの行動パターンはヒトへの感染性の指標となる。本研究では、行動パターンを指標に自然界に存在するヒトへの感染性を持つウイルス(新型ウイルスの候補)を探し出すことを目指し、ヒトやミズドリを宿主とするインフルエンザウイルスの行動の解析と分類を行った。ヒトウイルス7株、トリウイルス7株の解析をおこなった。受容体として α 2,6型シアロ糖鎖(6SG)あるいは α 2,3型シアロ糖鎖(3SG)を結合したガラス表面を作製し、この表面でのウイルスの行動を反射干渉顕微鏡で観察した。ヒトウイルスは、6SG表面に強く結合する、あるいは3SG表面で活発に運動した。従来ヒトへの感染には6SGとの強い結合が重要とされるが、3SA表面での運動も重要であると考えられる。トリウイルスは、両表面でウイルス株により様々な行動を示したが、ヒトウイルスと同等に6SG表面に強く結合するウイルス株や3SG表面で運動する株が存在した。新型ウイルスは、2009年のパンデミックでみられたようにブタを中間宿主とするウイルスが変異しヒトへの感染性を獲得したとされるが、今回のトリウイルスの結果は、ヒトへ感染する潜在能力を持つウイルスがすでにミズドリに存在することを示している。

課題番号：R03ス-002

研究課題：HTLV-1関連脊髄症モデルマウスを活用し、IL-17及びIL-17受容体の発現と病態形成機序の関連性を探索する

研究代表者名(所属)：和田 雄治(微生物学)

共同研究者名：齊藤 峰樹

ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)はRNA腫瘍ウイルスであり、両下肢麻痺や排尿排便障害を主症状とするHTLV-1関連脊髄症(HAM)を引き起こす。HAMは、HTLV-1感染細胞が脊髄内に侵入して慢性炎症を誘起する事により発症すると考えられているが、その詳細な機序は明らかとされていない。

本研究室のこれまでの研究活動により、HTLV-1 Taxタンパク質依存的に中枢神経性下肢麻痺を自然発症するHAMモデルマウス(2D2/Tax-Tg)を作出し、下肢麻痺発症群で血清中インターロイキン17

(IL-17)発現量が有意に減少する事を見出した。当初の研究計画ではHAM様病態にIL-17及びIL-17受容体(IL-17R)が果たす役割を探索する予定であったが、研究遂行過程においてHAMモデルマウスの改良に資する成果が得られた。HAMモデルマウスの改良に成功した場合、HAMの病態解明に寄与する知見の獲得のみならず、本研究の主目的であるHAMの病態形成機序とIL-17の関連性の解析に大きく貢献する事が期待される。以上の事から、本年度の研究活動では当初の研究計画を部分的に変更し、HAM患者により近い病態を解析できる可能性がある新たなHAMモデルマウスの確立に向けた基礎研究を実施した。

課題番号：R03ス-001

研究課題：インフルエンザウイルスの転写の場と核外輸送のキネティクス

研究代表者名（所属）：三浦 未知（微生物学）

インフルエンザウイルスのゲノムは8本のRNAに分かれており、それぞれはウイルスタンパク質NP（nucleoprotein）に巻き付き、ゲノムRNAの末端に結合したウイルス polymerase により感染細胞の核内で転写される。我々は single-molecule RNA FISH（smFISH）による解析から、インフルエンザウイルス WSN 株の8つのゲノムのうち HA（hemagglutinin）の mRNA が著しく長く核内にとどまり、HA のタンパク質発現を遅らせる何らかの調節を受けていることを見出した。インフルエンザウイルスは抗原性の高い HA の発現を遅らせることで増殖の土台となる感染細胞が宿主免疫により攻撃されるまでの時間を稼いでいるなどが考えられ、HA mRNA の核外輸送を調節する因子を同定し、組換えウイルスを用いて HA の発現調節の意義を調べる予定である。

令和3年度は smFISH のマルチプレックス化を行うことで、8種類のインフルエンザウイルス mRNA を単一細胞で同時に解析する手法を立ち上げた。DNA プローブの設計と作製、mRNA の蛍光標識と検出までを完了させ、現在は画像の取得と解析のプロトコール確立を行っている。これらは空間的トランスクリプトーム解析と呼ばれる手法の基盤となり、組織切片において単一細胞レベルでの RNA 発現プロファイル解析を行うなど他の研究においても非常に有用なものとなる。

課題番号：R03 基-024

研究課題：インフルエンザワクチンの効果改善に向けた取り組み—multi-HA スプリットワクチンの有効性の検証—

研究代表者名（所属）：後川 潤（微生物学）

共同研究者名：齊藤 峰輝

【背景】国内で使用されるインフルエンザワクチンの主要抗原タンパク質であるヘマグルチニン（HA）の球状頭部には複数のアスパラギン結合型（N型）糖鎖結合配列が存在し、HA の N 型糖鎖プロファイル（配置と数）はウイルスの性状や抗原性を規定する因子の一つと考えられる。特に HA の遺伝子変異頻度が高く、抗原性が多様化しやすい香港型インフルエンザウイルスでは、ワクチン製造株と市中流行株間の抗原相同性の不一致により、ワクチンの有益性が損なわれることが多い。本研究では抗原性のズレに対応できるワクチンへの改良を目的として、N型糖鎖プロファイルが異なる HA を混ぜたカクテル HA 抗原を用いて抗血清（抗体）を作成し、その有効性を検証した。【材料と方法】人工合成した HA 遺伝子に変異を導入し、N型糖鎖プロファイルが異なる組換えウイルスを作製した。ウイルス粒子を破壊して HA 分画を抽出し、3種類の HA を混合したカクテル HA 抗原をアジュバントとともにモルモットに免疫した。得られた抗血清を用いて赤血球凝集抑制試験およびプラーク形成抑制試験を行い、単一 HA 抗血清とカクテル HA 抗血清の性能を比較検証した。【結果と考察】カクテル HA 抗原によって得られた抗血清は、単一 HA 抗原によって得られた血清よりも広域かつ強い中和活性を示す傾向が認められた。今後は「N型糖鎖変異対応型カクテル HA ワクチン」の有効性を動物実験で検証する。

課題番号：R03 基-046

研究課題：肥満およびメカニカルストレス関連炎症惹起因子に着目した乾癬の病態解析および新規治療戦略の探索

研究代表者名（所属）：向井 知之（免疫学）

共同研究者名：石原 克彦、井関 将典、矢作 綾野、守田 吉孝、金藤 秀明

【目的】乾癬は炎症性皮膚角化症で、表皮角化細胞の過剰な増殖・免疫応答をみとめる。メタボリック症候群の合併が多いが、どのように乾癬病態に関与するかは明らかでない。今回、乾癬マウスを用い、肥満・高脂血症による炎症憎悪機序を解析した。

【方法】高脂血症モデルとして ApoE 欠損マウスを用い、肥満誘導に高脂肪食を 10 週間投与した。イミキモドを 5 日間耳に塗布し、乾癬皮疹を誘発した。

【結果】肥満のみ、高脂血症のみでは乾癬病変の有意な悪化はなかったが、肥満と高脂血症の併存により著明に皮膚病変が悪化した。皮疹部では IL-23A/17A/6/19 等の炎症性サイトカインや CCL20、CXCL-1/3/5

等のケモカインの遺伝子発現が亢進した。また、乾癬誘発の無い肥満群・高脂血症群の皮膚で、それぞれ CCL-20・IL-19 遺伝子発現の上昇傾向を認めた。正常ヒト表皮角化細胞を用いた実験で、レプチン、パルミチン酸が IL-17A また TNF によるサイトカイン産生を増強した。

【結語】メタボリック症候群関連炎症惹起因子としてレプチン・パルミチン酸が表皮角化細胞の活性化を介して乾癬様皮疹を増強する機序が考えられた。肥満また高脂血症のみにより、前乾癬状態といえる炎症病態が皮膚に存在することが考えられ、前乾癬状態を基盤に乾癬病変が発症・憎悪する機序が想定された。さらに、乾癬に合併する病態毎に炎症誘導機序が異なる可能性が示唆され、合併疾患に応じた Precision medicine の確立が期待される。

課題番号：R03 基-051

研究課題：BST-1/CD157 による小腸パイエル板胚中心 B 細胞の機能制御

研究代表者名（所属）：井関 将典（免疫学）

共同研究者名：石原 克彦、向井 知之、矢作 綾野

Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST-1)/CD157 は ADP リボシルシクラーゼ活性を有する細胞膜外酵素である。我々はこれまで BST-1 が脾臓 B 細胞の亜集団である辺縁帯 B 細胞やマクロファージの表面に発現していることを明らかにしており、これら自然免疫に関連する細胞での BST-1 の役割を解明するため *Bst1* 遺伝子欠損マウス (KO) を用いて解析を続けている。

上記の細胞以外に BST-1 を発現する免疫細胞を探す目的で、野生型マウスと KO の末梢リンパ組織をフローサイトメトリーによって解析した。その結果、小腸パイエル板 (PP) 内の胚中心 (GC) B 細胞の一部に BST-1 が発現していることを新たに見出した。GC は B 細胞が活発に増殖し、抗体のクラススイッチなどが起こる場であり、抗原免疫後の脾臓にも見られる。しかし卵白アルブミンを免疫したマウスの脾臓 GC B 細胞では BST-1 発現は検出されず、この現象は PP GC B 細胞に特異的であることが分かった。BST-1 の発現の有無によって PP GC B 細胞の状態が異なるかどうかを解析したところ、細胞の大きさや細胞表面の MHC クラス II、CD86 の発現が BST-1 陰性細胞と比較して陽性細胞で増加していた。既に活性化状態にある胚中心 B 細胞において、BST-1 が更なる活性化を示す新たな指標となる可能性が示唆された。

課題番号：R03 基-093

研究課題：腸管・神経・免疫関連制御分子 BST-1/CD157 のパーキンソン病の発症と病態における役割

研究代表者名（所属）：石原 克彦（免疫学）

共同研究者名：矢作 綾野、井関 将典、向井 知之

ヒト *BST1* の SNPs はパーキンソン病 (PD) の危険因子であり、*Bst1* 欠損マウス (*Bst1*KO) は PD の非運動神経障害 (抑うつ・便秘様表現型) を呈する。嗅覚及び PD の本態である α -シヌクレイン (α -Syn) の異常凝集における BST-1 の役割を検討した。

- 1) 大腸炎モデル：CX3CR1 欠損マウス (*Cx3cr1*^{gfp/gfp}) では、DSS (dextran sodium sulfate) 大腸炎誘導後、粘膜下神経叢への α -Syn 沈着が増強する。予備実験として *Cx3cr1*^{gfp/gfp} *Bst1*KO 及び *Cx3cr1*^{gfp/gfp} に DSS 腸炎を誘導したところ、CX3CR1 が正常の *Bst1*KO・野生型の比較と同様に *Cx3cr1*^{gfp/gfp} においても *Bst1*KO の DSS 腸炎は野生型より軽症の傾向を示した。*Cx3cr1*^{gfp/gfp} *Bst1*KO において α -Syn の沈着が軽症化する可能性が示唆された。
- 2) 鼻粘膜炎症モデル：鼻粘膜-嗅神経系を介した PD モデルとして、LPS 投与により鼻粘膜に炎症を惹起すると嗅球や黒質に異常な α -Syn が沈着するとの報告がある。*Bst1*KO と野生型の左側鼻腔に LPS (10 \cdot g/10ml 生理食塩水/day) 7 日間投与後の嗅球における *I11b*, *Tnf*, *I16*, *Snca* の遺伝子発現量に差は認められなかった。
- 3) 嗅覚障害：*Bst1*KO 雄の雌尿に対する嗅覚機能は正常であった。(京都大学 吉原博士)

課題番号：R03 基-071

研究課題：腸管炎症における BST-1 の機能検討

研究代表者名（所属）：矢作 綾野（免疫学）

共同研究者名：井関 将典、向井 知之、石原 克彦

私たちは NAD からサイクリック ADP リボースを産生する ADP リボシルシクラーゼ活性を持つ細胞膜外酵素 Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST-1) /CD157 の炎症性腸疾患における機能について、*Bst1* 欠損マウス (*Bst1KO*) のデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発大腸炎を解析し、BST-1 は炎症と上皮の脱落を促進させることを報告した。今回、炎症時の免疫系 BST-1 発現細胞に着目し、その細胞系譜の同定と大腸炎経過における動態を検討した。DSS 飲水後、野生型マウス (WT) 大腸血液系細胞のフローサイトメトリー解析では、自然免疫系細胞の増加を認め、BST-1 陽性細胞として、5、7 日目の好中球、マクロファージ (M \cdot) の絶対数が増加していた。DSS 飲水 5 日目の *Bst1KO* の大腸における *IL6* 遺伝子発現量は野生型に比べ 1/10 以下に減少していた。蛍光免疫組織染色した結果、WT では DSS 飲水 5 日目に大腸上皮傷害部と粘膜下層に IL-6 陽性の好中球が浸潤し、7 日目 (DSS 停止 2 日後) には浸潤細胞が好中球から M \cdot に変化していた。*Bst1KO* では 5 日目で好中球はほとんど認められず、IL-6 陰性 M \cdot が優位な細胞浸潤となり、それは 7 日目でも存続していた。以上の結果から、BST-1 は IL-6 陽性好中球の炎症部位への浸潤を持続させ、病態を増悪させる可能性が示唆された。

課題番号：R03 基-070

研究課題：悪性中皮腫患者における ICI 治療効果を予見する免疫学的特徴の探索

研究代表者名（所属）：西村 泰光（衛生学）

共同研究者名：伊藤 達男、李 順姫

石綿曝露が引き起こす悪性中皮腫は石綿大量消費の時代を経て現在増加傾向にある。免疫チェックポイント阻害薬であるニボルマブ (PD-1 阻害薬) は悪性中皮腫にも適応され効果を示すが、治療効果は一様では無い。治療前後の末梢血の免疫機能解析を実施し、主成分分析による包括的評価を実施した。ニボルマブ治療前、1 週間後、3 ヶ月後に末梢血より、血漿を分離し凍結保存、PBMC を調整した。PBMC の一部はフローサイトメトリーを用いて細胞表面分子発現量を測定し、残りは CD4 $^+$ T 細胞 (Th), CD8 $^+$ T 細胞 (CTL), CD56 $^+$ 細胞 (NK), 単球にソートし凍結保存した。RT-qPCR により各細胞集団の mRNA 発現レベルを測定した。luminex を用いて血漿中サイトカイン濃度を測定した。何れの測定項目も SD+PR 群と PD 群の群間比較、治療前後の変化の特徴は見られなかった。一方、治療効果 PR を示した 1 例では、Th 上 CD25%、CTLA-4%、CTL 上の HLA-DR%、刺激後 NK 中の IFN- γ mRNA が継続し高値を示した。これら 4 因子の主成分分析の結果、主成分 1, 2 は PR 例で常に高値を示し、散布図で PR 例は独立した座標に位置した。悪性中皮腫のニボルマブ治療の奏効と関わる特徴として、NK の高い IFN- γ 産生誘導能、多い活性化 CTL、多い Treg 細胞の知見を見出した。ニボルマブによる免疫抑制解除による強い抗腫瘍免疫の誘導が示唆される。

課題番号：R03 基-034

研究課題：自己免疫疾患の発症に関わる血中因子の検討 -自己免疫疾患早期発見ツール開発をめざして

研究代表者名（所属）：李 順姫（衛生学）

共同研究者名：伊藤 達男、西村 泰光、武井 直子

珪肺症では、肺の線維化に伴う慢性の呼吸不全に加え、特筆すべき点として、多発性硬化症、リウマチ、強皮症、近年では ANCA 関連血管炎などの自己免疫疾患を高頻度で合併することが報告されている。

これまでに、我々は自己免疫疾患の診断を受けていない珪肺症患者由来血漿中の代表的な自己抗体濃度を調べた。その結果、いくつかの自己抗体が健常人に比べ顕著に高い値であることを見出した。このことは、自己免疫疾患を発症していなくとも、珪肺症患者では自己抗体が出現しており、明らかに自己免疫疾患へ傾向していることを示唆している。この結果を受け、我々は、珪肺症例を自己免疫疾患への

過渡期にあると捉えることで、発症を予見することが難しい自己免疫疾患の早期発見を実現するツールを開発したいと考えている。

本研究では、従前からのデータに加え、検体数を増やすことでデータの正確性が増加することが期待できる。これまでに健常人ボランティアの年齢が、珪肺症例の年齢と離れており、この点が交絡要因となるとの指摘を多く受けて来たが、本研究では各群間の検体年齢を可能な限り近づけて収集した。本研究では、自己免疫疾患早期のバイオマーカーを探索し、早期発見ツールを目指す。

課題番号：R03 基-080

研究課題：覚せい剤の胃内移行の機構の解明に関する研究

研究代表者名（所属）：吉留 敬（法医学）

【目的】我々は、ラットにメタンフェタミン(MAMP)を皮下投与したとき、その胃内容濃度が血中濃度の数十倍もの高値に達することを明らかにした。本研究では、皮下投与した MAMP の胃内移行動態に及ぼす胃酸分泌抑制薬(GSI)の影響を調べた。

【方法】24 時間絶食させたラットを使用した。GSI 投与群には、Omeprazole 及びFamotidine を各 1mg/kg 皮下投与した。GSI 投与の 30 分後に、セボフルラン麻酔下で、塩酸 MAMP を 1mL/kg となるよう皮下投与した。その後開腹し、噴門の上部及び幽門の下部を鉗子で把持した。胃内に 0.1M リン酸ナトリウム緩衝生理食塩水 (pH9.4) を 1mL/分の速度で 2 分間注入後、全て抜き去った。この洗浄操作を 3 回行った後に、当該液を同速度で 2 分間胃内に注入し、30 分間保持させた。注入液を回収後、速やかに右心から血液を採取した。本動物実験は、川崎医科大学動物実験委員会の承認を得た(承認番号：19-082)。

【結果及び考察】血中 MAMP 濃度に対する胃内注入液中の MAMP 濃度の比は、対照群 (n=6) では 9.75 ± 5.85 であったのに対し、GSI 投与群 (n=6) では 0.26 ± 0.20 であった。GSI の投与によって、皮下投与した MAMP の胃内への移行が明瞭に阻害されたことから、血液中の MAMP が胃内へと移行する際に、胃酸分泌機構が関与していることが明らかとなった。

課題番号：R03 基-088

研究課題：全身性強皮症におけるエピゲノムバイオマーカーの探索

研究代表者名（所属）：藤田 俊一（リウマチ・膠原病学）

共同研究者名：守田 吉孝、中野 和久、赤木 貴彦

【目的】全身性強皮症は、自己免疫異常、血管障害、線維化を特徴とする膠原病である。皮膚内臓合併症を早期に検出することが予後改善に繋がるが、その合併症リスクを事前に把握することは困難である。近年、全身性強皮症の発症機序の中で、後天的な要因としてエピゲノム異常が報告されている。今回、全身性強皮症の皮膚組織および末梢血におけるエピゲノム異常に注目し、皮膚内臓合併症との関連性を明らかにすることを目的とする。【方法】川崎医科大学附属病院リウマチ・膠原病科および皮膚科通院中の全身性強皮症患者を対象とする。皮膚生検組織の免疫染色にてグローバルな DNA メチル化状態および DNA メチル化酵素の発現レベルを解析する。変動のあった酵素に関連する遺伝子を解析し、治療前後の血清のサイトカインの推移とともに皮膚内臓臓器病変との関連性を評価する。【結果】現在、全身性強皮症症例 6 症例（びまん皮膚硬化型 4 例、限局皮膚硬化型 2 例）より皮膚生検を施行した。2021 年 9 月の保険適応となった抗 CD20 抗体であるリツキシマブ治療を 5 例に行っている。【結論】エピゲノム異常の解析に加えて、B 細胞除去療法であるリツキシマブ治療前後のサイトカインの推移は、本疾患の病態を考える上で非常に興味深い。症例を蓄積し、全身性強皮症の合併症リスクの層別化を可能とする新規バイオマーカーを同定する。

課題番号：R03 基-041

研究課題：免疫再構築症候群 (IRIS) として発症する帯状疱疹の免疫状態の評価と合併症・予後予測因子の確立

研究代表者名（所属）：山本 剛伸（皮膚科学）

共同研究者名：杉山 聖子、青山 裕美

免疫低下状態から免疫が回復するときに、認識されなかった抗原に対する免疫応答が強く惹起され、感染症症状や膠原病が顕在化する。この病態を免疫再構築症候群 (IRIS) という。帯状疱疹は IRIS の代表的疾患であり、日常にありふれた疾患であるが、発症するときの特徴や発症後の長期予後について、全く解析されていない。

帯状疱疹患者を悪性腫瘍合併群、免疫抑制治療群、その他の 3 群に分類し、後方視的に解析した。帯状疱疹発症後 180 日以内の死亡例、血液検査データ (帯状疱疹発症時の好中球数、リンパ球数、好中球/リンパ球比: NLR) を解析し、予後予測因子について検討した。

帯状疱疹全体の 2.52% が死亡し、中でも悪性腫瘍合併帯状疱疹の 15.4% が該当した。死因の 33% は感染症であった。その他の群は、一般日本人の死亡率と差を認めなかった。悪性腫瘍群、免疫抑制群における帯状疱疹発症時のリンパ球数はその他の群より少なく、逆に NLR は高い。死亡例は生存例よりもリンパ球数低値、NLR 高値を示した。予後の評価について、NLR 4.84 をカットオフ値とすると、感度 83.3%、特異度 76.8% で区別可能であった。

悪性腫瘍合併帯状疱疹は、発症後 180 日以内の死亡率が、免疫抑制群やその他の群より高い。帯状疱疹発症時のリンパ球数、NLR が予後のマーカーとして有用であることが確認され、特に肺炎などの感染症に注意が必要となる。

課題番号：R03 基-002

研究課題：アデノウイルス陰性結膜炎の実態解明

研究代表者名（所属）：藤本 久貴（眼科学 1）

Purpose: アカントアメーバ角膜炎を発症後に角膜穿孔をきたした 2 例を報告すること。

Methods: アカントアメーバ角膜炎 (AK) は原虫であるアカントアメーバの感染によって引き起こされる感染症である。病初期から角膜所見に比べて強い疼痛を訴えることが多く本症の特徴の一つである。アカントアメーバ角膜炎は一般的に視力予後は不良であり、3分の1で失明し25%で角膜移植を必要とする。治療の過程で角膜穿孔を起こす症例も存在する。今回、角膜穿孔を起こした症例が、それを契機に感染が改善し良好な経過を辿った症例を経験した 2 例を報告する。

Results: 一人目の患者は難治性のアカントアメーバ角膜炎で治療が長期化していた。水晶体脱出を伴う角膜穿孔を起こしたため角膜パッチを施行した。その後感染は落ち着き炎症の再燃や感染の悪化は認めなかった。二人目は、治療中にデスメ膜瘤・前房の消失など角膜穿孔を疑う所見を認めた。点眼回数を減らしつつ経過観察すると結膜充血や疼痛などが軽快し、感染の改善を認めた。

Conclusion: アカントアメーバ角膜炎発症後に角膜穿孔を起こすと、症状・臨床所見が軽減する可能性がある。

課題番号：R03 基-098

研究課題：小動物 SPECT/CT を用いたマウス肝線維症モデルの非侵襲的肝機能評価法の確立

研究代表者名（所属）：犬伏 正幸（放射線核医学）

共同研究者名：曾根 照喜、竹内 省吾

【目的】臨床で非侵襲的肝機能評価として行われる肝受容体シンチグラフィにおいて麻酔薬を用いることはないが、マウスでは体動があるため通常はガス麻酔薬を用いて撮像を行う。しかし、ガス麻酔薬は肝臓で代謝を受けるため、肝機能評価の結果に影響を及ぼす可能性がある。そこでまず、マウスの肝受容体シンチグラフィにおけるガス麻酔薬の影響の有無を検討する。

【方法】マウスは C57BL/6N を、麻酔無し群として 6 匹、麻酔有り群として 5 匹用いた。麻酔無し群は、静注用のマウス固定具と結束バンドを用いてマウスを固定して撮像を行った。麻酔有り群は、イソフルラン (1-2%) を用いてガス麻酔下で撮像を行った。撮像は 10 秒収集を連続的に 20 分間行った。評価方法は心臓および肝臓に VOI を設定し、肝予備能の指標である LHL15 および HH15 の算出およびカウン

トから時間放射能曲線を用いた。そして麻酔無し群および麻酔有り群にて比較し検討を行った。

【結果】麻酔無し群および麻酔有り群において LHL15 および HH15 は有意な変化は認められなかったが、時間放射能曲線は麻酔あり群の肝臓の集積が時間とともに減少した。

【結論】肝受容体シンチグラフィにおけるガス麻酔の影響は肝予備能の指標において差は認められなかったが、肝臓の集積には影響を与えたと考えられる。

— 新分子・新技術 —

課題番号：R03 基-069

研究課題：核膜タンパク質は細胞遊走の制御を通して癌転移に関わっているのか？

研究代表者名（所属）：山内 明（生化学）

遊走は細胞の基本的な機能であり、癌細胞においては転移と深く関わっている。細胞内分子、例えばアクチンの重合は細胞移動に必須であり、その制御は癌克服へとつながる。

我々は細胞遊走に関する研究から、癌細胞動態を評価する系を確立し、癌転移を制御する新規低分子化合物を複数見出し、癌治療へ応用することを目指してきた。そのうちのひとつ化合物 14-100 は *in vitro* および *in vivo* で腺癌を移植したマウスの癌転移を抑えることが明らかとなった。本研究の目的は、我々が見出した低分子化合物 14-100 が、どのように細胞へ働きかけその機能を制御しているのかを明らかにすることである。

まず、化合物 14-100 が結合するタンパク質の同定を試みた。化合物 14-100 を磁気ビーズへ結合させ、ある種の細胞のライセートと混合し、化合物 14-100 に結合するタンパク質を釣り上げることにより、相互作用するタンパク質群を分離した。分離後のサンプルについて SDS-PAGE を行い分子量で分けた後、質量分析計にて分析することでタンパク質の同定を行った。

その結果、化合物 14-100 に結合する分子 X を同定することができた。この分子 X は、これまでいくつかの癌細胞および癌動物モデルで癌の転移に関与している報告があり、本研究においても癌転移の制御に関わっていることが考えられた。今後さらに分子 X の機能の詳細を解析していきたい。

課題番号：R03 基-013

研究課題：安全性の高い弱毒生インフルエンザワクチンの開発に資する基盤研究

研究代表者名（所属）：内藤 忠相（微生物学）

共同研究者名：齊藤 峰輝

【目的】先行研究により、インフルエンザウイルス PR8 実験室株 (A/Puerto Rico/8/34) がコードする PB1 ポリメラーゼの 471 番目の Lys 残基を His 残基に置換した PR8-PB1-K471H 変異株は、37°C では増殖できず 34°C 以下でのみ増殖できる低温増殖性を獲得することを明らかにしていた。本課題では PR8-PB1-K471H 変異株を用いて、健常者の体温条件では増殖活性と病原性が低減される新規弱毒生ワクチンの開発を目指す。

【方法】2021 年/2022 年冬シーズンのスプリットワクチン株に選定された A 型インフルエンザウイルス流行株である A/Victoria/1/2020/H1N1 株と A/Tasmania/503/2020/H3N2 株の主要抗原となるヘマグルチンおよびノイラミニダーゼ遺伝子をクローニングし、それらゲノムを逆遺伝学的手法によって PR8-PB1-K471H 株に組込んだ弱毒生ワクチン候補株を作出後、ウイルス性状解析を行った。

【結果・考察】培養細胞を用いた感染実験の結果、新規ワクチン株は既存の弱毒生ワクチン FluMist 株と同等な低温増殖性を獲得していた。抗原解析の結果、インフルエンザウイルス流行株と新規ワクチン株の抗原活性は同一であった。本成果により、弱毒生ワクチンとして PR8-PB1-K471H 株の実用性が見出され、今後は動物感染実験によりワクチン効果を検証する。

課題番号：R03 基-007

研究課題：我々が同定した新規遺伝性疾患 MPSPS に対する治療薬探索の試み

研究代表者名（所属）：大友 孝信（分子遺伝医学）

共同研究者名：森脇 隆仁、Viktoriiia Sofronova

Mucopolysaccharidosis Plus Syndrome (MPSPS, OMIM #617303)は我々が2017年に報告した新規疾患である。細胞内分解を担うオルガネラであるライソゾームへ物質を輸送する分子 VPS33A の遺伝子変異によって発症するが、ライソゾーム酵素欠損による疾患（ムコ多糖症）と同様の症状を示す。MPSPS には治療法が存在しない。我々は、MPSPS 患者で見つかった変異 VPS33A タンパク質が細胞内輸送機能を保っているものの非常に不安定であることに注目し、変異タンパク質を安定化する戦略が MPSPS の治療に結びつくと考えた。

ウイルスベクターを用いて、蛍光物質 GFP を融合した変異 VPS33A タンパク質を定常的に発現する細胞株を樹立したが、細胞内の GFP 蛍光をプレートリーダーで検出する事は困難であった。そこで我々はルシフェラーゼを融合した変異 VPS33A タンパク質を定常的に発現する細胞株を新たに樹立した。FDA 承認済みの薬剤 1970 種類で 24 時間細胞を処理し、ルシフェラーゼ基質の発光をプレートリーダーで測定する事で、変異 VPS33A 量を増加させる（安定化させると思われる）薬剤を検索した。その結果、変異 VPS33A タンパク質を正常レベルまで増加させる薬剤候補が約 50 種類同定された。（詳細は掲載不可）

今後、ムコ多糖の蓄積を低減させる指標で第2のスクリーニングを行って治療薬候補を絞り、詳細な機序を明らかにすると同時に細胞やマウスでの治療実験へ進める計画である。

課題番号：R03 基-022

研究課題：体幹筋細胞老化に関わる、IncRNA 機能調節マッピングのための CRISPR/ dCas13 プラットフォーム解析研究

研究代表者名（所属）：伊藤 達男（衛生学）

共同研究者名：武井 直子、李 順姫、西村 泰光

研究目的：CRISPR/dCas13 プラットフォーム解析技術の立証試験のため、SARS-CoV-2 由来の RNA 遺伝子が宿主細胞内で増殖する過程に関わる宿主由来因子の同定を行った。

SARS-CoV-2 は RNA ウィルスであり、宿主細胞に RNA 情報を導入したのちに宿主側因子翻訳装置を乗っ取った上でウィルス本体を構成するタンパク質を合成する。この行程は翻訳と呼ばれ、この過程には宿主側翻訳因子であるタンパク質や RNA 分子などがウィルス増殖に利用される。本研究開発機関中に、SARS-CoV-2 増殖抑制効果を期待できる創薬標的としての宿主 RNA 配列を決定した。

研究内容：

研究開発計画 1：SARS-CoV-2 の増幅に関わるウイルスゲノム配列の抽出

研究開発計画 2：SARS-CoV-2 ゲノム RNA と相互作用する宿主 RNA 配列の抽出

結果：CRISPR/dCas13 プラットフォーム解析技術を利用して、SARS-CoV-2 の 5' -UTR に相互作用する宿主由来因子の解析を行い、脂質代謝に関与する mRNA 群と相互作用する可能性が示唆された。更に、SARS-CoV-2 の 5' -UTR を含む mRNA の増加が、ACAA2、HMGcs、FADS1/2、SCD の mRNA 発現に影響を及ぼすことがわかった。

課題番号：R03 基-012

研究課題：ヒアルロン酸を用いた気管支喘息における新規舌下免疫療法の研究開発

研究代表者名（所属）：加藤 茂樹（総合臨床医学）

共同研究者名：田中 仁美

（目的）これまでダニ誘発マウス慢性喘息モデルのアレルゲン特異的舌下免疫療法（SLIT）におけるヒアルロン酸（HA）の作用増強剤としての有効性を証明し、国際特許を出願した。今回は、臨床治験を念頭に置き、実際にヒトへ薬剤として投与を予定している HA とダニ溶液を用いて、ダニ誘発マウス慢性喘息モデルにおける新規 SLIT の治療効果の最終確認を行う。

(方法) 既報の BALB/c マウスを用いたダニ誘発慢性喘息モデルに対してダニ溶液に HA を加えた SLIT を行う。SLIT は、1 日 1 回週 5 日 2 週施行する。その後、ダニ溶液を再投与し喘息反応を誘発する。治療効果の判定は、1:即時型喘息反応、2:気道過敏性、3:好酸球性気道炎症、及び 4:血中ダニ特異的抗体価で評価する。今回の研究では、臨床治験に用いる予定であるダニ(治療用ダニアレルゲンエキス皮下注『トリー』100,000JAU/mL)及び HA(ヒアルロンサン HA-LF5-A:食品添加物:キューピー)を使用する。

(結果) ダニ溶液だけでは有意な改善を認めなかったが、HA を舌下免疫療法に加えることにより、1~4 の有意な改善を認めた。特に 1,2 の生理学的検査に関しては正常化した。

(考察) 今回の新規 SLIT は、治療後にアレルゲンの再チャレンジを行っても気道抵抗の上昇を認めなかったことから寛解したものと考えられた。今後は、この寛解効果がどのくらい維持できるかを検討する。

課題番号: R03 基-060

研究課題: サルコペニアに対する革新的ペプチド医薬の開発

研究代表者名(所属): 砂田 芳秀(神経内科学)

共同研究者名: 大澤 裕、西松 伸一郎、白河 俊一

加齢性筋萎縮(サルコペニア)は健康寿命の短縮により介護医療費を押し上げる。その対策は、超高齢化社会を迎えた本邦の国民的課題となっている。マイオスタチンは胎生前期には筋の原基である体節に、胎生後期から誕生後は骨格筋に特異的に発現する TGF- β 分子で、ノックアウトマウスの骨格筋量が、野性型マウスの約 2 倍に増加することから骨格筋量を負に制御すると考えられている。我々は筋ジストロフィーモデルマウスで、マイオスタチン活性亢進による筋萎縮の分子機構を世界に先駆け明らかとした(Ohsawa, et al. J Clin Inv 161, 2006)。我々は、老化モデルマウス骨格筋の解析から、サルコペニアをマイオスタチン/TGF- β 活性亢進病態と仮説した。2021 年度は、老化モデルマウスへのマイオスタチン阻害ペプチドの投与によって骨格筋のマイオスタチン活性亢進が軽減し、筋萎縮が改善することを明らかとした。また、投与マウスと非投与マウスの骨格筋遺伝子発現の網羅的解析から、マイオスタチン/TGF- β 活性亢進に起因するサルコペニア病態に至る候補遺伝子を同定できた。今後、候補遺伝子の解析をすすめ、健康寿命延伸・介護医療費削減に向け、マイオスタチン/TGF- β を標的とした新規医薬品を本学から発信したい。

課題番号: R03 基-048

研究課題: 革新的バイオマーカーによる心疾患・筋疾患の簡易迅速診断

研究代表者名(所属): 大澤 裕(神経内科学)

共同研究者名: 砂田 芳秀、西松 伸一郎、白河 俊一

我々は、筋疾患と心疾患、とりわけ心筋梗塞超急性期に、血中に出現する筋細胞に由来する蛋白質を見出した。バイオマーカーになりうると仮定し、JST 支援事業として学校法人川崎学園からその国際特許を出願して権利化ができた(国際公開番号: W02017/094837)。本研究は、この蛋白質の検出キットを作成し、心疾患と筋疾患の急性期迅速診断における分析的妥当性を検証して、体外診断用医薬品としての POC の取得を目標とする。2020 年度までに、この蛋白質の 3 つの異なる抗原ペプチドに対する抗体(9 種類)を作成した。2021 年度は、作出した抗体を用いて、抗原ペプチドに対する ELISA 定量キットを作成し、その血液干渉を防止する条件について検討した。また、哺乳類細胞でリコンビナント蛋白質を製し、これを用いたイムノクロマト定性キットの条件設定に取り組んだ。今後、臨床血液検体を用いた ELISA 定量により、診断有用性を検証し、イムノクロマト定性キットの将臨床性能試験の実施を目指す。

課題番号: R03 基-063

研究課題: サルコペニアの新しいバイオマーカー開発

研究代表者名（所属）：宗兼 麻美（神経内科学）

共同研究者名：砂田 芳秀、大澤 裕、西松 伸一郎

我々は、タウリン大量投与治験によってミトコンドリア機能障害が改善し脳卒中様発作の再発が防止されることを証明し (Ohsawa, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 90(5):529-536, 2019)、2019年2月に国内薬事承認を取得した。この治験の by-product として、MELAS 患者では、末梢白血球ミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} アンチコドンの転写後タウリン修飾欠損が年齢依存性に減少、タウリン投与によって増加する驚くべき現象を見出した（国内特許 5028639）。本研究は、この修飾率が健常人の老化によっても減少、ミトコンドリアの豊富な骨格筋の老化表現型であるサルコペニアのマーカーとなると仮定する。2021年度は、健常人ボランティア検体の測定により、年齢依存性の減少を証明し、高齢マウス骨格筋でも修飾率が減少することを明らかとした。近年、この転写後タウリン修飾の分子機構が次々と解明されてきた (Suzuki T, Nat Rev Mol Cell Biol 22, 375-82, 2021)。今後は、年齢によって修飾機構が変容するかの検証も進め、バイオマーカーとしての基盤確立を目指す。

課題番号：R03 基-005

研究課題：脳主幹動脈閉塞による脳梗塞急性期における Neurovascular unit 障害と関連するバイオマーカーの探索

研究代表者名（所属）：八木田 佳樹（脳卒中医学）

共同研究者名：大山 直樹、岩本 高典

脳主幹動脈閉塞に対する再灌流療法は、機能予後改善のために最も有効な治療法である。一方で再灌流障害により出血性梗塞や脳浮腫悪化をきたす危険性がある。脳梗塞後の出血性変化や脳浮腫と関連しているバイオマーカーの既報はあるが、機械的血栓回収療法が急速に日常臨床に広がっている現代においてもそれらのバイオマーカーが再灌流障害を予測しうるかは不明である。本研究では、前方循環系の主幹動脈閉塞例を対象として、再灌流障害とバイオマーカーの関連性について前向き研究を行った。

入院時に採取した 91 名の患者血清を分析し、血清中の MMP-9、APP770、Endothelin-1、S100B、claudin-5 の濃度を測定した。血清バイオマーカーと術後 1 週間以内の出血性変化との関連性を検討した。91 名中 54 人の患者が血栓回収療法を受け、17 人の患者が出血性梗塞を発症した。全対象では血清バイオマーカーと出血性梗塞に有意な関連はみられなかった。機械的血栓回収療法症例において、血清 claudin-5 濃度と治療後の出血性梗塞発症には有意な関連が認められた (P=0.0181)。浮腫による正中線偏倚 5mm 以上をきたした症例では、血清 APP770 の濃度が高い傾向にあった (p=0.084)。

機械的血栓回収療法が広く実施されるようになった現代では、バイオマーカーの有用性が以前とは異なる可能性がある。血管内皮機能と関連する APP770 は、本研究においてはじめて脳浮腫増悪と関連する傾向が示された。APP770 は再灌流療法の機能予後予測に有用かもしれない。

課題番号：R03 基-004

研究課題：術前薬物療法前後の乳癌組織の生物学的変化を用いた予後予測ツールの開発

研究代表者名（所属）：紅林 淳一（乳腺甲状腺外科学）

共同研究者名：山本 裕、齋藤 互、森谷 卓也、三上 友香、佐貫 史明

目的：原発乳癌に対する術前薬物療法 (NAC) は、適応が拡大してきている。NAC の効果の評価としては、病理学的完全奏効 (pCR) の有無が重要視されている。しかし、non-pCR 症例の予後は様々であり、予後を予測できる因子が確立すれば、術後の追加治療の必要性を判断できる。そこで、non-pCR 例の予後を予測する因子を解析した。方法：当科で 2010 年 1 月～2019 年 12 月に NAC を受けた原発乳癌 146 例中、他院生検 4 例、同時両側性 1 例を除いた 141 症例を後方視的に調査した。予後に影響することが予想される臨床病理学的因子で群分けし、予後を解析した。結果：対象患者の年齢の中央値は 54 歳 (28～79)、臨床病期は stage I 1 例、II 67 例、III 73 例。術後の補助療法は、ザンクトガレンコンセンサス会議の推奨に準拠していた。全例における pCR は 22.7% (32/141) であった。Non-pCR 例における無再発生存率の予測因子としては、多変量解析の結果、遺残腫瘍の核グレード (NG) III (ハザード比

[HR], 3.010, $P = 0.0012$)、臨床病期Ⅲ (HR, 2.825, $P = 0.0079$)、臨床的治療効果が NC/PD (HR, 2.398, $P = 0.0151$) が抽出された。全生存率の予測因子としては、多変量解析では、NGⅢ ($P = 0.0009$)、臨床的治療効果が NC/PD ($P = 0.0034$) が抽出された。考察：今回の解析結果により、術前薬物療法の術前臨床病期、臨床的治療効果、遺残腫瘍の NG を考慮することにより、pCR 症例と同等の予後を期待できる症例を絞り込むことが可能であることが示された。現在、遺残組織の免疫組織化学的検討を進めている。

課題番号：R03 基-001

研究課題：糖代謝阻害剤 2-Deoxy-D-Glucose 封入 PLGA ナノ粒子による肝細胞癌治療開発

研究代表者名 (所属)：仁科 惣治 (消化器内科学)

共同研究者名：佐々木 恭、日野 啓輔

【目的】我々は解糖系阻害剤 2DG を封入した PLGA ナノ粒子製剤 (2DG-PLGA-NP) を開発し、がん治療への臨床応用を成し得ていない 2DG に対しがん細胞選択的機能を付与することで臨床応用への活路を見出した。本検討では、2DG-PLGA-NP を肝細胞癌治療薬としての非臨床試験を実施するため、非臨床試験の項目確定を目指す研究を行った。

【方法】I. 非臨床試験で投与する 2DG-PLGA-NP の用量用法設定を確定するための試験を行った。具体的には、過去のマウス実験で有効性と安全性が確認できた最低用量である 80mg/kg を中間用量に設定し、公比 4 で低及び高用量をそれぞれ 20 および 320mg/kg に設定した (全群週 1 回静脈投与)。II. 非臨床試験で必須の薬物動態解析の基盤として、生体血漿中の 2DG 含有量測定系 (LC-MS/MS 質量分析) を確立した。

【成績】I. 2DG-PLGA-NP の週 1 回投与では 80mg/kg (含有 2DG : 8mg/kg) 以上で [同用量用法の 2DG (原体) 投与群と比べて] 十分な腫瘍縮小効果が得られた。

II. マウス・ラットに対する血漿中 2DG 含有量の測定系を確立した。具体的には、2DG の検量線作成結果、2DG は定量範囲 (100~10000 ng/mL) での測定が可能となった。

【結語】2DG-PLGA-NP の非臨床試験項目確定に必要な用量用法設定および薬物動態解析の基盤確立を行った。

課題番号：R03 基-018

研究課題：人工知能を用いた慢性腎臓病患者の予後予測システムの開発

研究代表者名 (所属)：神田 英一郎 (学長付)

[背景]慢性腎臓病 (CKD) 患者の腎・生命予後の精緻な予測は治療方針の決定に有用である。しかしながら、既存のマーカーは腎・生命予後の予測精度が低く、臨床で利用されているとはいいがたい。そこで CKD 患者の腎・生命予後を予測する AI を開発した。

[方法]電子カルテデータより CKD 患者データ ($n=66,981$) を抽出した。データを機械学習開発用と検証用に分割した。まず開発用データを用いて、CKD 患者のアウトカム (末期腎不全・死亡) リスクを予測する 26 の機械学習モデルを開発した。各モデルはアウトカム発生確率を推算した。次に検証用データを用いて、モデルの予測精度を既存のバイオマーカーと bootstrap 法で比較した。さらに、Cox 比例ハザードモデルを用いて、アウトカムの予測確率と実際のリスクを比較した。

[結果]平均年齢は 60.1 歳、平均 eGFR は 54.2 ml/min/1.73m² であった。8 つの機械学習モデルは既存のマーカーよりも高い C 統計量を示し ($p<0.05$)、特にランダムフォレストモデルは 0.916 (95% CI 0.88, 0.952) と最も高い精度を示した。また、spline を用いてモデル化したところアウトカムの予測確率と腎・生命予後に強い関係が認められた ($p<0.0001$)。

[結語]本研究では CKD 患者の予後を正確に予測する機械学習モデルを開発した。このシステムにより AI の診断や治療への活用の可能性が示された。

— 大学院研究 —

課題番号：R03 大-001

研究課題：Vessel wall imaging を用いた症候性頭蓋内動脈狭窄病変の不安定性評価と不安定プラークに関連する因子の検索

研究代表者名（所属）：岩本 高典（生理系分野 神経病態生理学Ⅱ）

指導教授名：八木田 佳樹

脳主幹動脈狭窄を原因とする脳梗塞は再発リスクが高い。プラークの不安定性を評価する方法として3次元高解像度造影MRIを用いたvessel wall imaging (VWI)がある。VWIを用いて脳梗塞急性期におけるプラーク性状の経時変化を評価し、脳梗塞発症とプラーク不安定性の関連およびプラークの不安定性が遷延することと関連する因子を明らかにすることを目的とした。

川崎医科大学附属病院脳卒中科に入院した急性期脳梗塞患者のうち、頭蓋内動脈狭窄が原因である例を対象として、本研究へ前向きに登録する。2名の脳卒中専門医が独立してVWIの定性・定量判定を行った結果の相関性は高く、本評価法の妥当性が示された。現在21例の登録を完了している。この間にプラーク不安定性と脳梗塞発症が強く関連していることを示唆する症例を経験した。DWIでは右大脳半球に散在する高信号病変を、MRAでは右中大脳動脈M1部に狭窄病変を認めた。同病変はVWI陽性であり、今回の責任病変と考えられた。本例において別目的で1年前にVWIが施行されていたが、今回認められたVWI陽性部位に有意狭窄を認めておらず、VWIも陰性であった。脳主幹動脈狭窄が急速に進行するときに脳梗塞を発症するという病態を初めて示しえたと考えている（岩本高典，他：第47回日本脳卒中学会学術集会）。今後も症例登録を推進し、VWIの有用性を確立するために検討を続ける。

課題番号：R03 大-002

研究課題：トリプルネガティブ乳がんの特徴に関する病理学的検討

研究代表者名（所属）：三上 友香（形態系分野 検証病理診断学）

指導教授名：森谷 卓也

乳癌細胞株（MCF-7・KPL-4・MDA-MB-157・MDA-MB-231）を用いてセルブロックを作製し、免疫染色を施行しprolyl-4-hydroxylase α subunit (P4HA) 1, P4HA2 発現を調べた。さらに、各乳癌細胞株から抽出したタンパク質溶液を用いて、ウェスタンブロッティング (WB) によってP4Hタンパクの検出を行った。いずれの細胞でもP4HA1及びP4HA2発現がみられたが、トリプルネガティブ型乳癌細胞株（MDA-MB-157・MDA-MB-231）で陽性強度がやや強くみられた。WBでは、トリプルネガティブ型乳癌細胞株において、P4HA2が高い発現量を示した。臨床検体（乳癌手術90例）では、P4HA2は乳癌で発現が増しており、特に悪性度が高い症例において高発現することが明らかになった。従って、P4HA2は乳癌の悪性度マーカーの一つになり得ることが示唆された。P4HA1とHIF-1 α /HIF-2 α はいずれも正の相関あるいは傾向を示し、P4HA2とHIF-1 α /HIF-2 α はいずれも負の相関あるいは傾向を示した。しかし、培養細胞では、P4H1/2およびHIF1 α /2 α はいずれも低酸素環境にて正の相関を示し、P4HA2発現の結果に乖離を生じた。その理由を解明するとともに、P4Hと低酸素環境の関係について、さらなる検討が必要と思われる。

課題番号：R03 大-003

研究課題：末梢動脈疾患におけるVasohibinの発現に関する臨床病理学的検討

研究代表者名（所属）：磯田 竜太郎（形態系分野 検証病理診断学）

指導教授名：森谷 卓也

背景：末梢動脈疾患(PAD)では足趾潰瘍への血管新生療法が進んでいる。Vasohibin(VASH)は本邦で発見された血管新生調節因子で、血管新生抑制作用のVASH1、血管新生促進作用のVASH2がある。さらにVASHはtubulinの脱チロシン化を誘導する。Detyrosinated(DT)-tubulinを含むVASHの先行研究は腫

瘍新生血管が多い。

目的・方法:PADにおけるVASH1、VASH2およびDT-tubulinの発現を病理組織学的に検討した。

手術で切除した下肢動脈(PAD大腿58例、PAD下腿16例、対照として下肢血圧低下のない腹部大動脈瘤症例の大腿動脈20例)について検討した。Hematoxylin Eosin染色、Elastica-Masson染色およびCD31、VASH1、VASH2、DT-tubulinに対する免疫組織化学染色を行い、その新生血管における発現数を評価、統計学的手法で検討した。

結果:脛骨動脈における中膜および外膜のVASH2発現数は、PAD大腿群とAAA群よりも有意だった($P=0.005$, $P=0.008$, $P=0.002$, $P<0.001$)。中膜と外膜では、VASH2はDT-tubulinと有意に相関していた($P<0.001$, $P=0.002$, $P<0.001$, $P<0.001$)。中膜平滑筋細胞ではVASH2とDT-tubulinの発現に差はなかった(McNemar test, $P>0.999$)。

結論:本研究により、動脈硬化におけるVASH2の発現は、2つの事象をもたらす可能性があることが明らかになった。(1)外膜血管新生の誘導による内膜肥厚の悪化、(2)平滑筋細胞におけるDT-tubulinの増加による動脈弾性の低下。さらに、中膜でのVASH1の発現は、外膜から内膜側への血管新生による内膜肥厚を防ぐネガティブフィードバック機構として予防的な役割を担っていることが示唆される。これらの知見は、PADにおける動脈硬化の治療および進行抑制のための新たな治療標的を提供する可能性がある。

課題番号:R03大-004

研究課題:TNF受容体関連周期性症候群(TRAPS)モデルマウスを用いた病態解明

研究代表者名(所属):赤木 貴彦(組織培養・免疫系分野 リウマチ分子病態解析学)

指導教授名:守田 吉孝

【目的】TNF受容体関連周期性症候群(TRAPS)は、*TNFRSF1A*を責任遺伝子とする常染色体優性遺伝の周期性発熱疾患である。病態は未だ解明されておらず、疾患モデルマウスを用いて検討した。【方法・結果】TRAPS変異ノックインマウス(T79M、G87V)とTNFR1欠損マウスに対し、LPSとD-Galactosamineの腹腔投与(TNF依存性急性肝障害モデル)による死亡率を検討したところ、野生型マウスは致命的経過をたどるが、変異があると死亡率が低下した。また、TRAPS変異はヒトTNFトランスジェニックマウスの関節炎発症を強く抑制した。次に、炎症を惹起する刺激や条件を*in vitro*で検討した。TRAPS変異ノックインマウス(T79M、G87V、T90I)より作成した骨髄マクロファージをTNFとLPSで刺激し、*Tnf*と*I11b*遺伝子発現、MAPKとNF κ B活性を評価した。変異があるとTNF刺激への反応性が低下し、LPS刺激では野生型と同程度の反応性を示した。変異があると骨髄マクロファージでTNFR1蛋白量が増加し、腹腔内滲出細胞表面のTNFR1発現低下を認めた。【結語】細胞表面のTNFR1発現低下により、TNFへの反応性が低下していると考えられた。LPSは炎症惹起因子ではなかった。TRAPSにはTNF・LPS以外の疾患特異的な炎症惹起因子の存在が考えられ、引き続き解析を進める。

課題番号:R03大-005

研究課題:身体的活動量・体脂肪率・筋肉量が消化器症状におけるQOLに及ぼす影響

研究代表者名(所属):角 直樹(環境生態系分野 健康管理学)

指導教授名:高尾 俊弘

共同研究者名:山中 義之、藤本 壮八

【背景】過敏性腸症候群(IBS)は、身体運動によって症状が改善されることが示唆されている。健診受診者におけるIBSの重症度と身体活動量および心理的状況との関係について報告する。

【対象と方法】2021年10月から2022年2月までに当院健康診断センターを受診した20歳以上79歳以下の446例を対象とした。IBSの診断はROME IV基準を用いた問診票によって評価を行い、IBSと診断した71例のうち35例を対象に歩数計による1週間の歩数の測定や汗かく活動的な運動量の測定を行った。IBSの重症度はGastrointestinal Symptom Rating Score(GSRS)を用いて評価を行い、軽症群と中重症群の2群に分類した。IBSの重症度における健診項目、問診票で評価した日常生活活動量(1時間以上の

活動の有無), 活動的な運動量(2回/週かつ30分/日以上)の運動の有無), 運動強度(1週間の平均歩数と総運動量 Met×時間), 精神的健康度(WHO-5スコア), 不安・抑うつ尺度(Hospital Anxiety and Depression Scale: HADS)の比較などについて Mann-Whitney の U 検定および χ^2 検定で評価を行った。

【結果】HADSのうち不安尺度(HADS-A)では軽症群(28例)より中重症群(7例)で有意に高かった。年齢, 性差, 日常生活活動量と活動的な運動をしている受診者の割合や運動強度は IBS の重症度で有意差は認めなかった。

【結語】健診受診者における IBS の重症度と日常生活活動量, 活動的な運動量, 運動強度には関連は認めなかったが, 不安尺度には関連を認めた。IBS の健診受診者では, 身体症状だけでなく心理的な健康状態を考慮して診療を行う必要がある。

課題番号: R03 大-006

研究課題: マルチパラメトリック MRI を用いた膵外分泌機能不全のリスク因子の解明

研究代表者名(所属): 外園 英光(形態系分野 放射線診断学)

指導教授名: 玉田 勉

共同研究者名: 神吉 昭彦, 八十川 和哉, 檜垣 篤, 木戸 歩, 林田 稔, 山本 亮

【目的】膵外分泌機能不全のリスク因子の解明におけるマルチパラメトリック MRI の有用性について検討した。

【対象と方法】本後方視的研究は2016年11月から2018年1月の間にマルチパラメトリック MRI を撮像され, 膵疾患を有する症例を除外した46症例を対象とした。膵外分泌機能として, 空間選択的 IR パルス併用 cine-dynamic MRCP を用いた膵液の移動距離(secretion grade: SG)を評価した。膵実質の測定では, 脊柱起立筋との信号強度比(signal intensity ratio: SIR)を in phase(SIR-I), opposed phase(SIR-O), T2WI(SIR-T2)で計測し, apparent diffusion coefficient(ADC)値, proton density fat fraction(PDFF)も計測した。

【結果】SG, SIR-I, SIR-O, SIR-T2, ADC, PDFF はそれぞれ 1.2 ± 0.88 , 1.6 ± 0.31 , 1.5 ± 0.44 , 1.9 ± 0.42 , 1.5 ± 0.28 , 8.2 ± 6.69 であった(平均±SD)。PDFF は SG と有意な負の相関を示した($\rho = -0.317$, $P = 0.032$)。SG と SIR-I, SIR-O, SIR-T2, ADC に有意な相関関係は認められなかった。

【結論】Fat fraction によって定量された膵臓における脂肪の増加は膵外分泌機能不全のリスク因子である可能性がある。膵臓における fat fraction は膵外分泌機能不全の早期発見の指標となる可能性がある。

課題番号: R03 大-007

研究課題: HSV-1 感染発汗低下マウスにおける発汗障害のメカニズムの解明

研究代表者名(所属): 浅沼 由美子(組織培養・免疫系分野 分子病態皮膚科学)

指導教授名: 青山 裕美

アトピー性皮膚炎では皮膚に発汗障害が頻繁に観察されるがその原因は不明である。単純ヘルペスウイルス1型(HSV-1)が涙腺に感染し, 角膜炎や涙液分泌が低下する報告から, HSV-1 による発汗障害が生じる可能性があると考えた。またマウスでは有毛部に汗腺が存在しないため, 発汗障害がアトピー性皮膚炎の病態にどのように関与するかは解明されていない。HSV-1 感染と発汗障害の関係性について解明することを目的とした。野生型マウス(C57BL/6J)の大腿に HSV-1 を接種し, 唯一汗腺の存在する足底の発汗状態を Impression mold technique を用いて観察し, 汗腺の HSV-1DNA を PCR 法で検出した。HSV-1 投与後7~14日で有意な発汗障害を認めた。さらに, HSV-1 投与後に温熱ストレス負荷を行うと発汗障害が著しく増強した。その後, 発汗障害は自然に回復傾向を示した。発汗障害のピーク時には HSV-1DNA を汗腺および後根神経節で検出した。発汗障害は, ピロカルピン投与により改善せず, 組織学的に汗腺内腔の拡張と関連していた。不活化 HSV-1 または HSV-1 を前投与すると HSV-1 による発汗障害は抑制された。HSV-1 感染による発汗障害モデルマウスを作成した。HSV-1 投与によって誘導される発汗障害は汗腺の機能障害で, HSV-1 に対する獲得免疫が発汗障害を抑制すると考えられた。

IV. 令和3年度 医学研究への扉 優秀賞 抄録

演題名：急性薬物中毒患者に対する胃洗浄の適応判断にCTは有用か

学生氏名：松井 勇樹

指導教員名：井上 貴博、高橋 治郎、椎野 泰和

【背景】薬物過剰摂取(OD)による急性薬物中毒患者に対する治療として消化管除染のための胃洗浄がある。胃洗浄は服用後1時間以内に実施することが望ましいとされているが、実際は1時間以上経過していても実施することが多い。ただし、その適応については明確な判断基準はない。

【目的】服用後1時間以上経過している症例において、胃洗浄の適応判断としてCTの有用性を検討した。

【方法】2019年12月1日～2021年11月30日の急性薬物中毒疑い症例を後視的に調査した。服用後1時間以上経過している症例をOD群、実際にはODを認めなかった症例をコントロール(C)群として、両群間でCT上の胃内の高吸収域の有無について統計解析を行った。

【結果】CT上の胃内の高吸収域の存在をCT陽性とする、OD群のCT陽性はC群に比べて有意に高かった。そして、服用した薬物と毒劇物解析結果との一致率は93%であった。また、CT陽性で胃洗浄した症例は67%、服用からCT撮影までの平均時間は211分であった。

【考察】服用後1時間以上経過している症例でも、CT陽性であれば胃内に薬物が残留している可能性が高く、胃洗浄を考慮してもよいと思われた。しかし、本検討では胃洗浄の有効性までは評価できず、前向き検討により生理機能、服用した薬物の種類・量等の条件を適切に設定した上で統計解析を行う必要があると考えた。

【結論】OD群でCT陽性の場合、薬物残留の可能性が高く、胃洗浄の適応判断にCTは有用と思われる。

演題名：医学生が研修を希望する大学病院の特徴

学生氏名：福井 千遥

指導教員名：桑原 篤憲、庵谷 千恵子

【背景】医師臨床研修制度は、将来専門とする分野に関らず、基本的な診療能力を修得するための制度である。近年、大学病院よりも市中病院を選ぶ割合が増えている。しかし、定員充足率が高い大学病院が存在する。

【目的】定員充足率の違いによる大学病院の特徴を明らかにする。

【方法】医師臨床研修マッチング協議会ホームページ(HP)から大学病院本院を基本とするプログラムを同定し、定員とマッチ者数を調査した。研修病院や厚生労働省、政府統計の総合窓口、プライマリ・ケア連合学会(PC)のHP、臨床研修年次報告書から大学設立年や立地、病院の規模・患者数、救急医療や総合診療に関する項目を調査した。

【結果】設立年、手術件数、充実段階評価、PC指導医数を考慮しても大都市・都市・その周辺にある大学病院は、そうでないものと比べて、有意に定員充足率が高かった(回帰係数 0.31、95%信頼区間 0.14-0.47、 $p < 0.001$)。年次報告書のデータを用いた解析では、平均在院日数、救急車取扱件数、給与を考慮しても、大都市・都市・その周辺にある大学病院は、そうでないものと比べて、有意に定員充足率が高かった(回帰係数 0.24、95%信頼区間 0.087-0.40、 $p = 0.003$)。

【考察】医学生の選考には、成績証明書やCBTの結果などの書類と面接や筆記試験が用いられる。大都市及び都市、その周辺にある大学病院を希望する場合、これらが評価されることを念頭に置く必要がある。

演題名：EGFR 遺伝子変異陽性肺がん細胞株におけるPD-1/PD-L1発現と免疫チェックポイント阻害薬の有効性に関する基礎的検討

学生氏名：吉田 茉由

指導教員名：越智 宣昭、長崎 泰有、中西 秀和、山根 弘路、瀧川 奈義夫

PD-1/PD-L1 分子の同定から発展した腫瘍免疫機構解明の進展により、免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) は現在肺がんを含む多くの固形がんの標準治療の地位を確立している。特に 10~15%に長期生存が期待されるところが既存の薬物療法と大きく異なる。一方で、EGFR を含む各種ドライバー遺伝子変異陽性症例においては ICI の有効性が乏しいことが初期に報告され、多くの第 3 相試験では対象から除外されてきたが、最近の大規模臨床試験においては良好な成績も報告されている。このように EGFR 遺伝子変異陽性症例における PD-1/PD-L1 機構の役割については未解明の部分が多い。我々は、肺小細胞癌細胞株において PD-1/PD-L1 が共発現することを報告し、腫瘍細胞に発現する PD-1 が ICI の有効性に関与している可能性を報告した。今回、EGFR 遺伝子変異陽性細胞における PD-1/PD-L1 分子の発現を RT-PCR 法で検討した。肺小細胞がん細胞株 2 種 (SBC-3、SBC-5) と EGFR 遺伝子変異陽性を含む非小細胞肺がん細胞株 5 種において、PD-1 発現は既報通り SBC-3 では認められたが、その他の細胞株では認められなかった。PD-L1 発現は EGFR 遺伝子変異陽性細胞株で高い傾向にあり、Flow cytometry 法でも確認された。また、抗 PD-L1 抗体である Atezolizumab 存在下において EGFR 遺伝子変異陽性かつ PD-L1 強陽性細胞株の細胞増殖は抑制された。EGFR 遺伝子変異肺がん細胞株における PD-1/PD-L1 発現と細胞増殖シグナルの関連を解析中である。

演題名：レチノイン酸は、内皮細胞の H₂O₂ 生成量の調節を介してレドックス反応を制御する

学生氏名：上村 淳修

指導教員名：宮野 佳

血管新生に必須の血管内皮細胞遊走は、RA (レチノイン酸) やレドックス反応により制御されているが、両者の関係は不明な点が多く残されている。レドックス反応は、主として活性酸素 H₂O₂ により引き起こされる。内皮細胞の H₂O₂ 生成量は、H₂O₂ がペルオキシダーゼの存在下でルミノールと反応することにより生じる化学発光の強度で測定できる。私は、RA 処理した内皮細胞の H₂O₂ の生成量が未処理の細胞に比べて大幅に減少していることを見出した。内皮細胞には、H₂O₂ 生成酵素である NOX4 が豊富に発現している。免疫ブロット法により NOX4 タンパク質を検出したところ、H₂O₂ 生成の低下と一致して、RA 処理した内皮細胞では、NOX4 が低下していた。RA は、核内受容体を介して転写を調節することが知られている。RA 処理により NOX4 の mRNA レベルが低下することをリアルタイム-PCR 法により確認できた。以上の結果より、RA は NOX4 を転写レベルで下方制御し、NOX4 タンパク質の減少に伴う H₂O₂ 生成量の減弱を引き起こすことが分かった。これは、RA による血管内皮細胞遊走の制御が NOX4-レドックス反応を介していることを示唆する。

演題名：SSI (surgical site infection) 制御のための手術環境清浄化に関する検討

学生氏名：福田 なぎ沙

指導教員名：赤木 大輔、種本 和雄

【背景】手術野感染(surgical site infection;SSI)は現代も未解決問題であり、その制御のため様々な対策が行われている。手術用物品は当然無菌であるが、患者の状態や手術操作以外に落下細菌や塵埃など肉眼的に確認困難な手術環境も SSI 発生に関与している。手術環境は手術室環境と術者条件からなる。手術環境は一定の清浄性が担保されている前提であるため改めて検討されることは少ない。しかし施設老朽化や組織構成員の変化もあり手術環境の適切な維持は重要である。【目的】手術室環境と術者条件の両面から手術環境を検討すること。また附属病院には他院にないエアシャワーがありその効果も合わせて検討すること。【方法】手術室環境面より、心臓血管外科手術時に粉塵吸着ディスク及び寒天培地を設置し、落下塵埃数検討や培養法による細菌発育検討を行った。また術者条件面より、エアシャワー前後で着衣表面の遺残粒子数検討とタンブリングテストによる手術着衣からの発塵の検討を行った。【結果】術者足元に近い場所では多数の塵埃に加え多数の細菌発育が認められた。術野から離れた手術室壁近傍でも細菌発育を認めた。エアシャワー使用前で手術着衣に付着した粉塵数に有意差は認められなかった。またクリーンルームで使用されるクリーンウェアと比較し、手術着衣は衝撃による発塵が多かった。【結語】手術室床の清掃や手術中の塵埃巻き上げに配慮した行動が必要と考えられた。

演題名：アスパラギン結合型糖鎖に着目した抗原変異対応型カクテルワクチンの開発

学生氏名：安田 浩暁

指導教員名：後川 潤、齊藤 峰輝

【背景】抗原連続変異の頻度が高い香港型インフルエンザウイルス（A/H3N2）に対する適切なワクチン株の選定が困難である状況を改善するために、ヘマグルチニン（HA）球状頭部のアスパラギン結合型（N型）糖鎖に着目し、インフルエンザ HA ワクチンの改良を試みた。本研究では、逆遺伝学的手法を用いて N 型糖鎖プロファイル（配置と数）が異なる組換えインフルエンザウイルスを作出し、それらの HA を混合した「カクテル HA 抗原」を用いて抗血清を作製してその性能を検証した。

【材料と方法】人工合成した HA 遺伝子に変異を導入し、N 型糖鎖プロファイルが異なる組換えウイルスを作出した。ウイルス粒子を破壊して HA 分画を抽出し、3 種類の HA を混合したカクテル HA 抗原をモルモットに接種した。血液から血清を分離して赤血球凝集抑制試験（HI 試験）を行い、カクテル HA 抗原由来の抗血清と単一の HA 抗原由来の抗血清の性能を比較した。

【結果】本研究で行った HI 試験では、カクテル HA 抗原を接種して得られた抗血清を用いた場合の方が、単一 HA 抗原によって得られた抗血清よりも広範囲のインフルエンザウイルスに対して強力な赤血球凝集抑制効果を示した。今後は「N 型糖鎖変異対応型カクテルワクチン」の有効性を動物実験で検証する。

動物実験承認番号：21-004

バイオセイフティ委員会承認番号：14013-5

第二種使用等拡散防止措置機関承認番号：川換 19-14-3

演題名：ロブスター心臓の構造からバネ分子コネクチンの統合的解析

学生氏名：伊原 魁

指導教員名：花島 章、毛利 聡、橋本 謙、臼居 優、木元 弥咲、大平 桃子

心房が心室に血液を充填するシステムは脊椎動物において共通するが、節足動物の心臓は心室のみである。本研究ではロブスターの心臓を分子から臓器レベルで統合的に解析し、脊椎動物心臓の進化戦略との違いを考察した。

エコーで心室壁の動きを観察し、殻を開けると心室が虚脱することから心室への血液流入は心室に付着する弾性組織によると考えた。収縮期心室圧は 10mmHg 程度であった。組織染色では両生類同様に冠血管が無く心筋組織は粗であり、電子顕微鏡像ではサルコメア長は哺乳類と同程度だったが横断面でのミオシンフィラメント密度は低かった。これらはロブスターが開放血管系であり大きな心室収縮力が必要ないためと考えられる。また心室の拡張性を決めるコネクチン分子の発現を qPCR で確認し、哺乳類と同様骨格筋のものよりも小さいことが SDS-PAGE、WB で分かった。免疫蛍光顕微鏡で観察するとコネクチンがサルコメアの I 帯領域に局在しており、PCR で全一次構造を決定するとバネ領域が極端に短かった。

以上のことから、心房によって受動的に血液を送り込むシステムを選択しなかった節足動物は心室を伸びやすくする必要が無く、コネクチン分子のバネ領域は進化の過程で一貫して短かったと考えられる。両生類時代には重要であった心房が心室の血液吸引機能獲得によって不要になりつつあり、バネ領域も短縮させた哺乳類とは異なる歴史を辿ってきたと推察される。

演題名：腹膜線維化モデルの作成

学生氏名：山田 浩平

指導教員名：角谷 裕之、柏原 直樹

【背景】腹膜透析（PD）は、末期腎不全の腎代替療法として有効な治療法である。血液透析と異なり、自宅で患者自身が行う在宅医療であり、頻回な通院が不要である。しかしながら PD が普及しない

要因の一つとして長期継続で腹膜に線維化が生じた結果、PD を離脱せざるを得ない状況が少なくない。そのため、PD 長期継続の最大の障壁である腹膜肥厚・線維化の分子機序の解明が重要な課題と考える。

【目的】「腹膜線維化の分子機序を解明するために、腹膜線維化モデルを確立させる」ことを本研究の目的とした。

【方法】野生型 C57/BL6J マウスを使用した。同マウスに 0.1% クロロヘキシジン・グルコネート (CG 群) を 3 回/週、腹腔内へ投与し腹膜線維化モデルを作成した。対照群には、偽薬を同様に腹腔内へ投与した (Vehicle 群)。評価項目として腹膜肥厚の計測、Masson trichrome 染色、 α SMA の免疫染色を行った。また、Collagen IV、TGF- β の発現量を mRNA レベルで評価した。

【結果】CG 群は Vehicle 群と比較して腹膜中皮細胞下層が肥厚し線維化を認めた。また、CG 群は Vehicle 群と比較し α SMA 陽性細胞の増加を認めた。Collagen IV、TGF- β の mRNA レベルでの発現量は、CG 群で Vehicle 群と比較し有意な発現増加を認めた。

【結論】腹膜線維化モデルを作成することができた。今後、同モデルを使用することで腹膜線維化の分子機序解明につなげることが出来ると考えた。(動物実験委員会承認番号; 21-064)

演題名: 糞便移植は大腸がんを抑制するか

学生氏名: 兼城 陽菜子

指導教員名: 松本 啓志

【背景】大腸癌は増加しているがその要因は明らかになっていない。大腸癌のリスク因子としては食事 (高脂肪食)、肥満、身体活動 (運動不足) があり、その共通因子として腸内細菌も注目されている。

【目的】糞便移植により大腸ポリープを抑制できるか検討する。【方法】高脂肪食誘発肥満マウスにおける食事、運動、食事+運動、糞便移植がアゾメキシタン誘発大腸腫瘍への影響を調べる。食事は普通食と高脂肪食を与え、運動はトレッドミル運動を行った。糞便移植は普通食、普通食+運動、高脂肪食+運動の条件を与えられたマウスの便を投与した。【結果】高脂肪食は普通食よりもマウス大腸ポリープは増加した (ポリープ数中央値 普通食 6.5 個 vs 高脂肪食 12.0)。運動によってマウス大腸ポリープは抑制された (普通食+運動 4.0 vs 高脂肪食+運動 5.0)。糞便移植でもマウス大腸ポリープは抑制された (普通便移植 5.0, 普通食+運動便移植 4.0, 脂肪食+運動便移植 8.0) 【考察】脂肪食および運動は既報告どおり大腸ポリープに影響を与えた。また同様に糞便移植も大腸ポリープ発生に影響を与えた。その原因として腸内細菌叢、またそれによる何らかの代謝物質である可能性がある。そのため、現在腸内細菌叢解析、糞便短鎖脂肪酸、糞便胆汁酸解析を行っており、その原因をさらに追究している。【結語】高脂肪食誘発肥満マウスにおけるアゾメキシタン誘発大腸腫瘍は糞便移植によって抑制された。

演題名: 遺伝性有口赤血球症の病因解析

学生氏名: 伊室 天羅

指導教員名: 末盛 晋一郎、通山 薫

「緒言」

遺伝性有口赤血球症 (hereditary stomatocytosis: HSt) は、赤血球膜の陽イオンチャンネル異常により、赤血球形態変化と赤血球破壊亢進による貧血 (溶血性貧血) をきたす疾患である。

HSt は赤血球形態・血算・血液生化学検査所見などから診断され、治療法の選択・予後予測がなされるが、これらの検査方法では確定診断が困難な症例が存在する。

一方、HSt の病因遺伝子変異が同定されており、遺伝子解析により確定診断と病因解析が期待できることから、HSt の確定診断が困難な症例に対して病因遺伝子解析を行った。

「症例」

検査所見から、赤血球膜陽イオンチャンネルの 1 つである PIEZO1 の異常に起因する HSt が疑われる症例。

「方法」

患者末梢血白血球から抽出したゲノム DNA をテンプレートとし、PCR ダイレクトシーケンス法を用いて PIEZ01 遺伝子解析を実施。

「結果」

病因の可能性が示唆される変異として、PIEZ01 遺伝子にミスセンス変異 L2192I が同定された。

「考察」

PIEZ01 遺伝子変異 L2192I は、海外の HSt 患者に同定されており、バイオインフォマティクスを用いた解析ツールを複数組み合わせで解析されているが、病因としての意義は不明と報告されている。一方、今回の解析で日本人の HSt 患者にも同一の変異が同定されたことから、本変異は HSt の病因となりうる可能性があることが示唆された。

演題名：氣息性嗄声の治療のためのマウス声門閉鎖不全モデルの検討

学生氏名：平林 朋也

指導教員名：雑賀 太郎、田所 宏章、原 浩貴

【はじめに】

嗄声は様々な要因で発症してコミュニケーションの支障となり、患者の生活の質を著しく低下させる。我々は嗄声を来す声門閉鎖不全患者の新規治療を考えるうえでマウスを用いた研究を行っている。マウスで老年とされる 18 か月を加齢モデルとして先行研究で報告しているが、加齢によって甲状披裂筋の増加と喉頭内脂肪組織の増加を認めた。今回我々は、さらに生存率が低下する 22 か月齢以降のマウスを用いて比較検討した。

【対象と方法】

2 か月齢、18 か月齢、25 か月齢のマウス、C57BL6 オスを用いて比較検討した。加齢性変化として喉頭内の脂肪量が増加することを調べるため、マウス喉頭を 4%パラホルムアルデヒドで固定後、重クロム酸カリと四酸化オスミウム混合液にて再固定し、パラフィン切片で甲状披裂筋と脂肪の断面積を測定した。画像解析は ImageJ を使い、統計解析は t 検定を用いた。

【結果】

甲状披裂筋は 2 か月齢と 18 か月齢は増加傾向であり、18 か月齢から 25 か月齢にかけて有意に減少した。脂肪組織は 2 か月齢、18 か月齢、25 か月齢と加齢に伴って増加しており、2 か月齢と比べて 25 か月齢で有意に増加した。

【考察・まとめ】

ヒトでは 50 歳後半に甲状披裂筋の質量がピークとなり、80 歳では減少しているということが知られており、25 か月齢マウスはヒト 80 歳を想定した加齢モデルとなりうると思われた。(19-117)

演題名：認知症の行動・心理症状発現に関する認知機能低下の影響～ABC 認知症スケールを用いた検討～

学生氏名：福良 有唯

指導教員名：和田 健二

【背景】認知症は、中核となる認知機能の低下に加え、日常生活動作(ADL)の低下や行動・心理症状(BPSD)の発現と関連しながら重症化していく。特に BPSD は当事者のみならず介護者の生活の質に大きな影響を及ぼす症状であるため、関連因子の解明が重要とされている。

【目的】認知症の症状を包括的に評価する ABC 認知症スケールの 3 つの BPSD 症状(焦燥感・易怒性・協調性)と関連する認知機能領域を明らかにすることである。

【方法】対象は総合医療センターもの忘れ外来を受診した患者 77 例(平均 81.1±6.5 歳、男性 25 例、女性 52 例)で、初診時に施行した ABC 認知症スケールと MMSE の結果をもとに、SPSS を用いて重回帰分析を行った。従属変数に ABC 認知症スケールのそれぞれの得点を、独立変数に MMSE サブスコアを投入し、年齢、性、教育歴で調節した上で関連因子をステップ・ワイズ法で抽出した。

【結果】ABC-B 総得点と MMSE 総得点は有意に相関していた。MMSE サブスコアである「言語理解」の低下は、3 つの BPSD 症状のいずれにも関連しており、焦燥感には「図形模写」、易怒性には「即時再生」

と「復唱」、協調性には「場所の見当識」のサブスコア低下が関連していた。ただし、焦燥感には「Serial7」の保持も関連していた。

【結語】認知機能の低下はBPSD発現に関連しており、BPSD発現に関連している認知機能には、共通した領域や症状ごとに異なる領域が存在することが示唆された。(承認番号：5321-00)

演題名：『うわっ…私の国の接種率低すぎ…？ 子宮頸がんワクチン接種率、驚異の1%未満！！』

学生氏名：川田 政康

指導教員名：中村 信彦、森谷 卓也

【背景】来年度からHPVワクチンの積極的勧奨が再開されるという話題に興味を持ち、その重要性を伝えるため、一般市民向けの情報提示を行った。【方法】海外のHPVワクチン接種率やその効果、子宮頸癌ガイドラインなど9つの文献と厚生労働省のHPを参照し、子宮頸癌やHPVの説明、感染を放置した場合の経過、ワクチンの効果、ワクチン接種率、子宮頸癌の手術についてパネルで解説した。また、illustratorを用いたオリジナルのイラストと、紙粘土を用いた子宮の模型を製作した。【結果】パネル展示では、文字数を極力減らして図やグラフを多く用いるよう意識した。イラストの一部はillustratorを用いて自分で描いた。一般市民向けであることを意識し、子宮頸部を特に強調した図になるように工夫した。模型は、正常子宮と子宮頸部円錐切除術後の子宮の二つを製作し、一目で両者の差が理解できるようにした。【考察】他者に医療情報を分かりやすく伝えるためには、自分自身が内容を十分理解していること、医学的に正確であることに加え、対象者が内容を端的に理解できる内容を取捨選択することが重要と思われた。今回は、専門用語を極力排すこと、文字を見やすくすること、ビジュアルな媒体を用いて理解を深めていただくことに注力した。自分自身が理解するための手法は勉学に、提示の仕方は患者への説明にもつながるスキルであることが理解できた。

演題名：擦筆（さっぴつ）の軌跡～メディカルイラストレーションによる病態理解～

学生氏名：小豆畑 美咲

指導教員名：レオン 佐久間、森谷 卓也

【背景】メディカルイラストレーション（MI）とは、医療情報を的確に分かりやすく伝える可視化手段である。製作者の意思・感情が重視される通常のイラストとは異なり、医療の学術・教育現場に必要なツールである。今回、MIを活用して疾患を視覚的に伝達する方法を模索した。【方法】メディカルミュージアムの肉眼標本を3つ選び、それらのMIを作成し説明文を加えた。疾患は肺結核、肺アスペルギルス症、拡張型心筋症を選んだ。MIは下書き→陰影をつける→Photoshopで色付けし完成させた。説明文と合わせて展示用のパネルを作成した。【結果】スケッチでは鉛筆一本で白、黒、赤を表現した。黒は鉛筆で、白はそれを消すことで作るが、赤は鉛筆の濃淡で表すよう工夫した。また、鉛筆のタッチを変化させることにより細かい色合いが調整できた。説明は、イラストに見合ったサイズのパネルのスペースに限りがあることから、閲覧者（医療従事者や学生）が病気を理解できるよう、記載内容を限定（正常臓器、スケッチした標本の写真、スケッチ、病態と治療法）した結果、見栄えの良いパネルを完成させることが出来た。【考察】医療現場において、事実を正確に伝えることは重要である。MIでは対象をつぶさに観察し、正確に写し取る必要がある。さらに、相手に分かりやすく表現するための、多大な労力を要する。MIに携わる方々が今日の充実した教育環境を支えて下さっていることを心に刻み勉学に励みたい。

演題名：頭蓋内外バイパス術技術向上のための様々な材料をもちいたトレーニング法の検討ー2

学生氏名：高柳 史生

指導教員名：小野 成紀、三好 康之、福原 徹、目黒 俊成、浜内 祝嗣、谷口 美季

未掲載

演題名：簡易電気分解装置を用いたファラデー定数の測定と最適条件の評価 2

学生氏名：池野 元紀

指導教員名：大橋 武文

電源装置を用いて銅線を電極、 CuSO_4aq を電解液として電気分解を行い、ファラデー定数の測定と最適な実験条件を評価した。評価の対象となる実験条件には主に 4 つの要素があり、①電極の直径(mm)、②電極間の距離(cm)、③電解液の濃度(mol/L)、④電圧(V)である。このうち、③と④に関しては過去 2 年間の実験から最適な条件が導かれているため、今回の研究では①と②の 2 つの要素のみに着目して実験を行った。①では新たに直径 1.2 mm と 2.6 mm の銅線を使用してみた。その結果、2.6 mm の銅線を用いた実験の対文献値は、平均と標準偏差ともに最も良い値が得られた。このことから、直径 2.6 mm の銅線にすることで表面積が大きくなり、電気量が大きくなったと考えられる。また、②では 2 cm と 3 cm を比較して、2 cm の方が電流が多く流れており、電気量が大きくなった。この電気量が大きくなったということが、ファラデー定数をより文献値に近づける要因になったと考えられる。以上のことから、直径は 2.6 mm、電極間距離は 2 cm、電解液の濃度は 1.0 mol/L、電圧は 1.5 V が最適な実験条件であると言える。

演題名：覚せい剤の胃内分泌に対する制酸薬の影響

学生氏名：細川 隆利

指導教員名：吉留 敬

背景と目的:覚せい剤メタンフェタミン(MAMP)の乱用者は自ら注射によって MAMP を使用している場合であっても罪を逃れるために、第三者に飲まされたと嘘をつくため、摂取経路の特定法の開発が望まれる。これまでの研究で、胃内に分泌される MAMP 量を指標とした摂取経路の推定法の開発を試みているが、MAMP が血液中から胃内へと移行する機構や影響を及ぼす因子についても不明である。本研究では、胃内に MAMP が移行する要因を明らかとするために制酸薬が、MAMP の胃内移行に及ぼす影響について調べた。

方法:ラットに omeprazole および famotidine をそれぞれ 1mg/kg となるよう投与し、1mg/kg の MAMP を皮下注射後、胃に pH9 の 0.1mol/L リン酸緩衝液を 2mL 注入し、洗浄後、30 分経過後に緩衝液を採取した。その後、右心より血液を採取し、これらの試料を液液抽出後、GC-MS で MAMP 濃度を解析した。

結果:制酸薬を投与していない群では、MAMP の血中濃度に対する胃内濃度の比は 9.75 ± 5.85 であるのに対し、制酸薬を投与した群では 0.98 ± 1.30 となった。

考察と展望:制酸薬の有無による MAMP 濃度比の平均は約 10 倍の差がみられた。そのことから MAMP の胃内移行には胃酸の分泌が関係していると考えられた。ただし、その他の要因についての知見はまだまだなく、胃内には内因子やペプシノーゲンなど胃酸以外の物質が分泌されるため、今後、それらの影響についてもさらなる研究の必要がある。

演題名：1 型糖尿病患者における SGLT2 阻害薬（イプラグリフロジン）の有効性の検討

学生氏名：田中 一風

指導教員名：木村 有紀子、阿武 孝敏

【目的】1 型糖尿病患者における SGLT2 阻害薬の有効性を検討する。

【方法】川崎医科大学総合医療センター通院中のインスリン治療中の 1 型糖尿病患者で、SGLT2 阻害薬（イプラグリフロジン）を開始した 7 例を対象とした。開始 3 ヶ月前から開始 6 ヶ月後にかけての 3 ヶ月毎の血糖コントロール状態、各種臨床パラメータの推移を解析し、副作用の発症の有無を評価した。

【結果】1 例は尿路感染症のため内服中止し、6 名で解析を行った。年齢 46.8 ± 8.3 歳、罹病期間 14.8 ± 9.3 年であった。HbA1c (%) は開始時 9.1 ± 1.1 で、3 ヶ月後 8.4 ± 1.1 、6 ヶ月後 8.2 ± 1.2 と有意に改善した。BMI (kg/m²) は開始時 29.2 ± 4.4 、3 ヶ月後 28.5 ± 4.3 と有意に減少した。総インスリン量（単位/日）は開始時 47.0 ± 15.1 、6 ヶ月後 42.5 ± 14.3 と有意に減少した。また、観察期間中に低血糖の発症はなかった。

【考察】1型糖尿病患者にSGLT2阻害薬を併用することで、体重増加なく、血糖コントロールは改善し、その有用性が示された。